

**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DA ÁGUA DO CÓRREGO DA
SUB-BACIA DA UFSC UTILIZANDO *DAPHNIA MAGNA* COMO
ORGANISMOS-TESTE**

Cristiano Maluf

**FLORIANÓPOLIS, (SC)
JULHO/2008**

**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DA ÁGUA DO CÓRREGO DA
SUB-BACIA DA UFSC UTILIZANDO *DAPHNIA MAGNA* COMO
ORGANISMOS-TESTE**

Cristiano Maluf

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina para
Conclusão do Curso de Graduação em
Engenharia Sanitária e Ambiental**

**Orientador
Prof. William Gerson Matias, Dr.**

**Co – Orientadora
Prof^a. Cátia Regina Silva de Carvalho Pinto, Dra.**

**FLORIANÓPOLIS, (SC)
JULHO/2008**

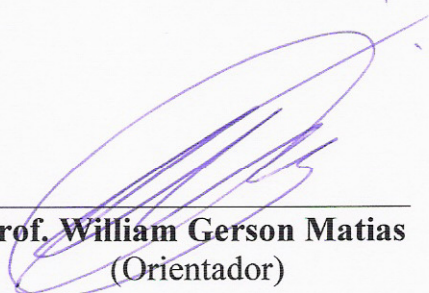
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DA ÁGUA DO Córrego da sub-bacia
da UFSC UTILIZANDO *DAPHNIA MAGNA* COMO ORGANISMOS-TESTE**

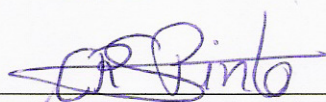
CRISTIANO MALUF

**Trabalho submetido à Banca Examinadora como parte dos requisitos
para Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia Sanitária e
Ambiental–TCC II**


BANCA EXAMINADORA:



Prof. William Gerson Matias
(Orientador)



Prof.ª. Cátia Regina Silva de Carvalho Pinto
(Co-Orientadora)



Msc. Sílvia Pedroso Melegari
(Membro da Banca)

**FLORIANÓPOLIS, (SC)
JULHO/2008**

*A Deus, pelo dom da vida.
Aos meus pais, Eduardo e Rita,
e irmãos, Leandro e Veruska,
por dedicarem amor, carinho e confiança.*

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Toxicologia Ambiental (LABTOX) e ao Laboratório Integrado do Meio Ambiente (LIMA), nos quais desenvolvi este trabalho e, de forma especial, aos professores William Gerson Matias e Cátia Regina S. C. Pinto, meus orientadores.

A minha família, pelo incentivo, amor e confiança.

Ao meu irmão, Leandro, que com paciência me ajudou nas coletas de água.

À Débora, pela ajuda no momento em que precisei.

A todos da Flow Engenharia, pelo apoio e compreensão.

Àqueles que estiveram ao meu lado durante os anos de faculdade.

RESUMO

A toxicologia ambiental estuda o impacto potencialmente deletério de substâncias químicas que constituem poluentes ambientais sobre os organismos vivos. O presente trabalho está relacionado com esse tema, na avaliação da qualidade da água de três pontos específicos da Bacia do *Campus* da UFSC. O primeiro local de coleta está situado na nascente do Rio do Meio, o segundo local num ponto intermediário deste rio, próximo à Reitoria, e o último ponto próximo ao deságüe para o mangue. Realizou-se uma avaliação toxicológica utilizando *Daphnia magna* como organismo teste, através dos testes de toxicidade aguda e toxicidade crônica. Foram verificados também alguns parâmetros físico-químicos da água, que serviram de subsídios para a interpretação dos dados biológicos, como a DQO, pH, OD e Condutividade. A água foi coletada no córrego e analisada no Laboratório de Toxicologia Ambiental (LABTOX) e no Laboratório Integrado do Meio Ambiente (LIMA). Os resultados dos testes mostraram que as amostras dos três pontos de coleta não apresentaram toxicidade aguda ou crônica aos organismos-teste. Porém, a não observância de efeito tóxico agudo ou crônico não garantiu uma água enquadrada nos padrões de qualidade de um rio Classe 1 segundo a legislação (CONAMA n° 357/05), pois foi verificada a existência de matéria orgânica na água, nos pontos intermediário e final do córrego, indicando poluição do corpo hídrico.

PALAVRAS-CHAVE: Qualidade da Água; Testes de Toxicidade; *Daphnia magna*

ABSTRACT

Environmental toxicology is the field of study which studies the potentially deleterious impact of chemical substances that constitute environmental pollution to live organisms. The present study is carried out based on the aforementioned premise; it focuses on the evaluation of water quality in three specific spots of the Basin of the *Campus* of UFSC. The first place of the assemblage was situated at the fountain of Meio River (Rio do Meio), the second place at an intermediary spot of the same river, near the Rectorship and, the last place near the draining to the swamp. A toxicological evaluation was carried out using *Daphnia magna* as a testing organism through the tests of acute toxicity and chronical toxicity. Some physical-chemical parameters of water were also examined serving as support for the interpretation of the biological data such as the Chemical Oxygen Demand – COD, pH, Dissolved Oxygen - OD and Conductivity. The water was assembled at the creek and it was analyzed at the Environmental Toxicology Laboratory (LABTOX) and at the Integrated Laboratory of Environment (LIMA). The results demonstrated that the samples of the three spots of assemblage did not present acute or chronical toxicity to the test-organisms, that is, they did not present chemical substances with deleterious potential at the analyzed spots. However, the absence of acute or chronical toxic effect did not guarantee that the water is totally compatible with the quality patterns of Class 1 following the legislation (CONAMA n° 357/05), since organic substance was observed in the water in the intermediary spot and at the end of the creek which indicated pollution of the hydric body.

KEY-WORDS: Water quality; Toxicity Tests; *Daphnia magna*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação da natureza multidisciplinar da toxicologia.	16
Figura 2: Organismo-teste <i>Daphnia magna</i>	19
Figura 3: Micro-bacia do <i>Campus</i> da UFSC	28
Figura 4: Micro-bacia do <i>Campus</i> da UFSC inserida na Bacia do Itacorubi (sem escala)	29
Figura 5: Localização do Rio do Meio na sub-bacia da UFSC (sem escala).....	30
Figura 6: Ponto de coleta da amostra de água na nascente da Bacia do <i>Campus</i> da UFSC	31
Figura 7: Ponto de coleta de água localizado atrás da Reitoria da UFSC	32
Figura 8: Ponto de coleta de água do final do córrego da UFSC.....	33
Figura 9: Metodologia do teste de toxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i>	36
Figura 10: Esquema do teste de toxicidade crônica com <i>Daphnia magna</i>	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas no córrego da UFSC.....	41
Tabela 2: Teste de toxicidade aguda da água da nascente do córrego.....	43
Tabela 3: Teste de toxicidade aguda da água do meio do córrego (1º teste).....	44
Tabela 4: Teste de toxicidade aguda da água do final do córrego (1º teste)	44
Tabela 5: Teste de toxicidade aguda da água do meio do córrego (2º teste).....	45
Tabela 6: Teste de toxicidade aguda da água do final do córrego (2º teste)	46
Tabela 7: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (CONTROLE)..	47
Tabela 8: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (100%).....	48
Tabela 9: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (50%).....	49
Tabela 10: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (33,33%).....	50
Tabela 11: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (25%).....	51

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. Objetivo geral	13
2.2. Objetivos específicos	13
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
3.1. Proteção dos mananciais urbanos	14
3.2. Introdução à Toxicologia Ambiental	15
3.2.1. <i>Etimologia</i>	15
3.2.2. <i>Toxicologia – Ciência Aplicada</i>	16
3.2.3. <i>Veneno e substâncias tóxicas</i>	16
3.2.4. <i>Metabolismo e biotransformação</i>	17
3.2.5. <i>Toxicologia Ambiental</i>	17
3.2.6. <i>Princípios de ensaios utilizados em toxicologia ambiental</i>	18
3.3. Seleção do organismo-teste	18
3.4. Parâmetros Toxicológicos.....	20
3.4.1. <i>Toxicidade Aguda</i>	20
3.4.2. <i>Toxicidade Crônica</i>	21
3.5. Parâmetros físico-químicos.....	22
3.5.1. <i>Demanda Química de Oxigênio – DQO</i>	22
3.5.2. <i>Condutividade</i>	22
3.5.3. <i>pH</i>	22
3.5.4. <i>Oxigênio Dissolvido - OD</i>	23
3.6. Legislação vigente	24
4. METODOLOGIA	27
4.1. Caracterização da área em estudo	27
4.2. Coleta, armazenamento e preservação das amostras	33
4.3. Cultivo de <i>Daphnia magna</i>	33
4.4. Duração do tratamento.....	34
4.5. Testes realizados	34
4.5.1. <i>Teste de toxicidade aguda para amostras de água</i>	34
4.5.2. <i>Teste de toxicidade crônica para amostras de água</i>	36
4.5.3. <i>Teste de Demanda Química de Oxigênio – DQO</i>	39
4.5.4. <i>Teste de Condutividade</i>	39
4.5.5. <i>Teste de pH</i>	40
4.5.6. <i>Teste de Oxigênio Dissolvido – OD</i>	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1. Análises Físico-químicas	41
5.2. Toxicidade aguda.....	42
5.3. Toxicidade crônica.....	46
6. CONCLUSÃO	53
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
8. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	56
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

1. INTRODUÇÃO

Toda vida existente na Terra nasceu da água e poderá desaparecer pela própria água, por ser ela um dos elementos indispensáveis no Planeta Terra. Entre os recursos naturais que o homem dispõe, a água aparece como um dos mais importantes, sendo indispensável para a sua sobrevivência. Em suas múltiplas atividades, o homem precisa da água. A água é um bem precioso visto que a cada ano torna-se mais difícil encontrá-la própria para consumo ou utilização humana. No Planeta, 97% de toda água existente são salgadas; as geleiras constituem 2,2% e a água doce apenas 0,8% sendo que destes 0,8%, 97% são águas subterrâneas e apenas 3% estão fáceis e diretamente disponíveis para o uso do homem como águas superficiais (VON SPERLING, 2005).

O futuro próximo depende da manutenção da qualidade da água doce. Quanto às águas dos rios, e subsuperficiais, são essas que devem constituir-se na prioridade imediata no que se refere à preservação de qualidade, porque estão elas disponíveis e que dia após dia, todos fazem uso direta ou indiretamente.

Quando utilizamos água, muitas vezes não nos ocorre a idéia de que essa água deverá voltar para a natureza, sendo que em muitas vezes, imprópria para seu reuso, uma vez que a mesma pode estar com concentrações elevadas de uma série de compostos indesejáveis à manutenção da vida. Também não ocorre a idéia de que a água que consumimos em nosso dia-a-dia provém de uma série de dependentes ambientes de ecossistemas intactos, estando, alguns, sofrendo ação antrópica indesejável (MOTA, 1995).

A má qualidade da água dos rios e lagos influencia diretamente na cadeia alimentar. Um exemplo disso é a contaminação do homem (elo final da cadeia) por metal pesado existente nos peixes que vivem em águas poluídas. Portanto, a necessidade de preservação da água é fundamental na medida em que futuras gerações farão uso desse patrimônio.

O ambiente é um dos principais determinantes da saúde e do bem estar humano. Os ambientes saudáveis promovem a saúde individual e comunitária, enquanto que os ambientes insalubres podem produzir a morte, doenças ou incapacidade além do enfraquecimento das condições econômicas da comunidade.

Os seres vivos, em geral, estão expostos a uma grande variedade de toxicantes via ar, água e alimentos, geralmente em baixas concentrações que podem não produzir efeito agudo, mas sim efeito a longo prazo.

A sub-bacia do *Campus* da UFSC encontra-se inserida na bacia hidrográfica do Itacorubi em Florianópolis / SC e possui problemas com relação à ocupação desordenada do solo em virtude do crescimento urbano. Tal proximidade do córrego e a falta de rede de esgoto em determinados locais ou mesmo a falta de consciência de moradores que não fazem suas ligações à rede coletora geram interferência na natureza, através do lançamento de efluentes no curso d'água.

O presente trabalho está relacionado com o estudo da qualidade da água de três pontos específicos do Rio do Meio, na bacia do *Campus* da UFSC, onde além de serem avaliados alguns parâmetros físico-químicos para conhecimento das características da água coletada, os parâmetros toxicológicos como indicadores da qualidade da água são de maior interesse no momento.

Todos os rios da Ilha de Santa Catarina, com exceção da foz do Rio Tavares, são classificados como Classe Especial, ou seja, são destinados ao abastecimento público (CERH nº 003/2007). Porém, como na Classe Especial não existem parâmetros, o córrego da UFSC foi analisado como pertencente à Classe 1, ou seja, condições menos severas de proteção do mesmo. Sendo assim, pela norma legal, em rio de Classe 1 não pode ser lançado nenhum efluente, ainda que este efluente esteja tratado (ESTADO DE SANTA CATARINA, 1981).

Portanto, é necessária a avaliação das condições do rio tendo em vista a sua manutenção ou recuperação como Classe 1, segundo a legislação (CONAMA nº 357/05).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o grau de toxicidade da água do córrego da sub-bacia do *Campus* da UFSC em três pontos distintos, através de testes de toxicidade utilizando-se microcrustáceos chamados *Daphnia magna* como organismos-teste.

2.2. Objetivos específicos

Como objetivos específicos, pode-se citar os seguintes:

- Realizar o teste de toxicidade aguda;
- Realizar o teste de toxicidade crônica;
- Realizar as análises físico-químicas (DQO, Condutividade, pH, OD);
- Verificar se os resultados obtidos nos testes estão de acordo com a legislação vigente;
- Verificar se existe correlação entre os resultados das características físico-químicas e toxicidade.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Proteção dos mananciais urbanos

Atualmente, tem-se previsto que a crise deste século deverá ser a da água, em virtude da deteriorização dos mananciais existentes que têm capacidade finita.

Com o aumento e a densificação populacional que o mundo vem sofrendo, fatos como a poluição doméstica e industrial se agravam, criando condições ambientais inadequadas pela contaminação dos corpos hídricos.

A urbanização crescente e acelerada, feita em geral sem avanços qualitativos de infra-estrutura, pode acarretar uma série de alterações ambientais que prejudicam a qualidade de vida da população. O desenvolvimento urbano sem qualquer planejamento ambiental causa prejuízos significativos para a sociedade (TUCCI, 2002).

O acelerado processo de urbanização nos países em desenvolvimento (consequência natural do desenvolvimento econômico), a falta de planejamento dos órgãos responsáveis pela infra-estrutura urbana e a desinformação da população podem ser considerados como os principais responsáveis pelos problemas de contaminação hídrica.

Estas condições são decorrentes da ausência de planejamento da rede cloacal e pluvial, bem como da ocupação das áreas de risco quando se formulam os Planos Diretores de Desenvolvimento Urbano e do gerenciamento inadequado da implantação das obras públicas e privadas no ambiente.

Segundo Mota (1999):

“O planejamento urbano deve resultar na conservação dos recursos naturais, entendida como o uso apropriado do meio ambiente dentro dos limites capazes de manter sua qualidade e seu equilíbrio, em níveis aceitáveis. Deve visar, assim, à ordenação do espaço físico e à provisão dos elementos relativos às necessidades humanas, de modo a garantir um meio ambiente que proporcione uma qualidade de vida indispensável a seus habitantes, atuais e futuros”.

A qualidade da água de um córrego, além de seus usos, depende das atividades que se desenvolvem em suas margens. Pode-se dizer que a mesma está intimamente relacionada com o uso que se faz do solo em seu redor (MOTA, 1981).

Segundo Tucci (2002), à medida que o ambiente é urbanizado e a densificação consolidada, a contaminação das águas superficiais, caracterizada pelos rios urbanos ou que atravessam cidades, ocorrem devido aos seguintes fatores:

- a) despejos de poluentes dos esgotos cloacais domésticos ou industriais, através das ligações clandestinas de esgoto;
- b) despejos de esgotos pluviais agregados com lixo urbano;
- c) escoamento superficial que drena áreas agrícolas tratadas com pesticidas ou outros compostos;
- d) drenagem de água subterrânea contaminada que chega ao rio.

Os efeitos desse processo acabam inviabilizando o manancial exigindo novos projetos de captação de áreas mais distantes e não contaminadas, ou o uso de tratamento de água e esgoto mais caros; fazem-se sentir sobre todo o aparelhamento urbano relativo a recursos hídricos. Assim, deve-se considerar o todo (água e solo), de modo que o uso deles resultem no menor impacto possível sobre a qualidade da água.

A bacia hidrográfica surge, então, como a unidade a ser considerada quando se deseja a preservação de recursos hídricos, já que as atividades (antrópicas) desenvolvidas nela têm influência sobre a qualidade da água.

A bacia de drenagem é uma área geográfica (definida topograficamente) limitada por divisores de água. Ela é drenada por um curso d'água ou um sistema conectado de cursos d'água tal que toda vazão efluente seja descarregada para um determinado recurso hídrico através de uma simples saída conhecida como exutória. Uma seção de um rio define a sua bacia hidrográfica.

Segundo Mota (1995), bacia hidrográfica ou bacia de drenagem é a unidade mínima para qualquer estudo hidrológico.

Para o monitoramento dos recursos hídricos que integram uma bacia hidrográfica, algumas medidas de preservação podem ser realizadas, como: sistemas de coleta e tratamento de esgotos, disciplinamento do uso e ocupação do solo, controle da qualidade da água e legislação de controle da poluição. Desta forma, os impactos sobre os recursos hídricos são minimizados.

Apesar de não entrar a fundo em medidas de preservação, este trabalho trata da avaliação da qualidade da água do Rio do Meio, com maior ênfase nos parâmetros toxicológicos como indicadores da qualidade do corpo hídrico.

3.2. Introdução à Toxicologia Ambiental

3.2.1. Etimologia

"*TO PHARMACON*" significa, em grego, toda substância que altera a natureza de um corpo, toda droga salutar ou malfeitora. A palavra *pharmacon* deve ser associada, etimologicamente, a *toxos*, que significa, primitivamente, o conjunto de arco e flecha. Na antigüidade, essas flechas eram quase sempre envenenadas. Foi Aristote de Stagire, o precedente de Alexandre o Grande, quem primeiramente mencionou o termo "*toxicon pharmacon*", significando "flecha envenenada" (GRAEFF, 1984).

Com o passar do tempo e com as degradações lingüísticas, o significado do adjetivo *pharmacon* (envenenamento) se aproximou pouco a pouco do nome *toxicon* (flecha) e, segundo a lei geral clássica de contração que rege todas as linguagens, a expressão "*toxicon pharmacon*" tornou-se *toxicon* com o significado de tóxico, e não de flecha (GRAEFF, 1984).

3.2.2. Toxicologia – Ciência Aplicada

O estudo dos venenos foi um tema de muitas culturas antigas. Por exemplo: para os egípcios, o estudo dos glicosídeos cardíacos; para os chineses, os alcalóides do ópio; para os incas, os alcalóides da coca e da estricnina; para os gregos, a cicuta.

A toxicologia é a ciência dos venenos (toda substância que destrói ou altera as funções vitais). É uma ciência aplicada, não possui técnicas próprias e, por este motivo, é obrigada a utilizar as técnicas de outras ciências (Figura 1).

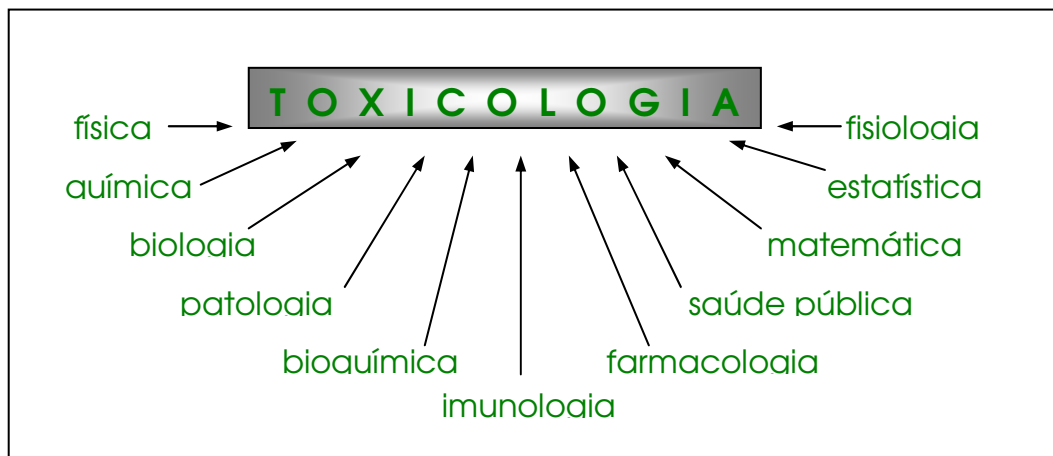


Figura 1: Representação da natureza multidisciplinar da toxicologia.
Fonte: MATIAS (2007)

A toxicologia era considerada como uma parte da farmacologia, restrita à profissão médica, que tinha como objetivo principal o diagnóstico e tratamento das intoxicações humanas com medicamentos e produtos naturais.

Hoje em dia, o objetivo da toxicologia é estudar os diversos problemas ligados aos tóxicos avaliando o grau de toxicidade dos poluentes.

Como resultado direto das reclamações dos movimentos ambientalistas, os quais diziam que a população estava se intoxicando e também contaminando a biosfera com substâncias químicas, a toxicologia começou a se expandir em novas direções, como, por exemplo, a toxicologia ambiental.

3.2.3. Veneno e substâncias tóxicas

Veneno e substâncias tóxicas são palavras-chave da toxicologia, também conhecidas por xenobiótico. Veneno é toda substância capaz de alterar em qualquer de suas partes a estrutura ou funcionamento do organismo (MATIAS, 2007).

A célula é submetida a dois processos opostos: o catabolismo destrutivo, liberador de dejetos, e o anabolismo construtivo, que necessita de uma contribuição alimentar. As reações químicas que se efetuam ao curso dessas operações liberam a energia necessária à vida celular. Havendo harmonia entre o anabolismo e o catabolismo, a vida continuará e o equilíbrio vital será a relação desses dois fatores (MATIAS, 2007).

3.2.4. *Metabolismo e biotransformação*

A exposição dos seres vivos aos xenobióticos ambientais pode ser inadvertida e acidental, e pode, ainda, ser inevitável. Alguns xenobióticos são inofensivos, porém outros podem provocar respostas biológicas de natureza tóxica. Essas respostas biológicas, geralmente, dependem da conversão da substância absorvida em um metabólico ativo.

Segundo Azevedo (2003), a diferença existente entre o metabolismo de um xenobiótico e o metabolismo de um alimento reside no fato de que, para o metabolismo fisiológico, o organismo o efetua para tirar proveito (liberação de energia, etc), e, para o metabolismo de um xenobiótico, o organismo utiliza todos os processos disponíveis para transformar e eliminar o mais rápido possível o elemento tóxico.

3.2.5. *Toxicologia Ambiental*

A toxicologia ambiental é uma sub-área da Ciência Toxicologia que tem como objetivo estudar os efeitos deletérios causados por substâncias ou compostos presentes no meio ambiente (ar, água e solo) sobre os organismos vivos. Esses estressores podem ser de natureza química, física ou biológica (CHASIN E PEDROZO, 2003).

A poluição ambiental é quase sempre relacionada a compostos químicos. Avaliar individualmente a concentração dessas misturas pela especificidade das metodologias, torna-se muito oneroso. Assim, a avaliação do efeito global da amostra complexa possibilita avaliar o efeito tóxico de um efluente com um único parâmetro: a sua toxicidade.

Segundo Azevedo e Chasin (2003), no estudo de toxicidade, avaliam-se os efeitos causados aos organismos-teste, por meio da exposição dos mesmos às várias concentrações do efluente ou substância potencialmente tóxica a ser testada, por período determinado.

Monitoramento é, segundo a Resolução CONAMA nº 357, artigo 2º, inciso XXV, a medição ou verificação de parâmetros de qualidade e quantidade de água, que pode ser contínua ou periódica, utilizada para acompanhamento da condição e controle da qualidade de água (BRASIL, 2005).

Para a realização do monitoramento de águas, uma série de parâmetros físico-químicos podem ser utilizados. Contudo, nenhum desses parâmetros é capaz de determinar se a amostra poderá ter efeitos tóxicos na biota aquática (SAAR, 2002).

Segundo Lobo e Callegaro (2000), o termo geral “monitoramento da qualidade da água” inclui tanto o monitoramento físico-químico quanto o monitoramento biológico. Porém, estimar a toxicidade com base nos resultados de análises físico-químicas é dificultoso e inadequado, pois, por ser a toxicidade um fenômeno biológico, parece evidente que a resposta biológica é a mais apropriada.

O monitoramento biológico se desenvolve através de uma avaliação toxicológica e se destaca por dois argumentos: primeiro, os organismos apresentam uma resposta integrada ao seu ambiente, e, segundo, se o que interessa é manter comunidades biológicas saudáveis, é muito mais apropriado monitorar as

comunidades aquáticas do que somente as variáveis físico-químicas (GOLDSTEIN, 1988).

Ainda, Knie e Lopes (2004) escrevem:

"Muitas vezes os sistemas biológicos já reagem a concentrações de substâncias bem abaixo dos limites de detecção por métodos de análises químicas. Além disto, em função da resposta integrada da matéria viva a todos os fatores perturbadores, a reação dos organismos inclui também os efeitos produzidos por substâncias novas na água, formadas através de interações, as quais, via de regra, subtraem-se da análise química. Assim, os bioensaios permitem, geralmente, uma avaliação bastante segura do potencial tóxico de substâncias ou de meios contaminados, permitindo, também, deduções indiretas do seu risco para o meio ambiente e, com muita cautela, para o homem."

A avaliação toxicológica das águas possibilita a minimização do impacto ambiental causado por efluentes tóxicos, a garantia da manutenção da vida aquática e, também, contribui na busca de medidas mitigadoras.

3.2.6. *Princípios de ensaios utilizados em toxicologia ambiental*

Os ensaios toxicológicos atualmente praticados são destinados a pesquisar se um produto apresenta ou não efeitos tóxicos ou nocivos e, se for o caso, qual é a natureza desses efeitos e seu grau de toxicidade. Graças aos conhecimentos resultantes da experimentação, pode-se avaliar o grau de toxicidade das águas e seu impacto no meio ambiente.

O presente estudo dos efeitos biológicos causados pela água do córrego da UFSC foi feito *in vivo*, isto é, com espécies vivas. Integra, assim, o conjunto das influências recíprocas entre a substância e o organismo testado.

3.3. Seleção do organismo-teste

A avaliação da toxicidade aquática demanda a seleção de organismos-teste. Algumas considerações influenciam na escolha da espécie:

- Facilidade de reprodução;
- Facilidade de cultivo;
- Velocidade de crescimento e desenvolvimento;
- Disponibilidade no mercado;
- Facilidade de manipulação dos animais;
- Conhecimento da biologia da espécie.

Dentre as espécies que atendem a tais critérios, que são amplamente utilizadas internacionalmente e cujas metodologias de cultivo e teste são normatizadas em vários países, cita-se o microcrustáceo *Daphnia magna* (Figura 2).



Figura 2: Organismo-teste *Daphnia magna*
Fonte: LABTOX (2006)

Finkler (2002) cita que o organismo-teste *Daphnia magna* é utilizado em teste de toxicidade desde a década de 40 e nos últimos vinte anos tem sido utilizado em testes de toxicidade agudos e crônicos.

Daphnia magna é um microcrustáceo planctônico de água doce, com tamanho médio de 5 a 6 mm. Ele atua na cadeia alimentar aquática como consumidor primário entre os metazoários, alimentando-se por filtração de material orgânico particulado, principalmente de algas unicelulares. Em condições ambientais favoráveis, reproduz-se assexuadamente por partenogênese, originando apenas fêmeas. As daphnias são vulgarmente conhecidas como pulgas d'água e ocupam uma importante posição nas cadeias alimentares aquáticas.

A escolha da *Daphnia magna* como organismo-teste, fundamenta-se principalmente nos seguintes critérios:

- Os descendentes são geneticamente idênticos, o que assegura certa uniformidade de respostas nos ensaios;
- A cultura em laboratório, sob condições controladas, é fácil e sem grandes dispêndios;
- O manuseio é simples devido ao tamanho relativamente grande da espécie;
- A espécie reage sensivelmente à ampla gama de agentes nocivos;
- A espécie é adequada para testes estáticos;
- O ciclo de vida e de reprodução é suficientemente curto, permitindo, assim, usar as daphnias também em testes crônicos.

Segundo Ruppert e Barnes (1996), as daphnias são classificadas da seguinte forma:

- Filo Arthropoda;
- Subfilo Crustácea;
- Classe Branchiopoda;
- Ordem Diplostraca;

- Sub-ordem Cladocera;
- Família Daphnidae.

Esses organismos possuem coxas providas de epípodos achatados que servem como brânquias, são lateralmente comprimidos, com a cabeça livre e o tronco fechado dentro de uma carapaça bivalve que termina posteriormente em um espinho apical. A extremidade da ponta do tronco, o pós-abdômen, vira-se ventralmente e para frente, portando garras e espinhos especiais para a limpeza da carapaça (BRENTANO, 2006).

As pulgas d'água nadam por meio das segundas antenas, sendo que o movimento é predominantemente vertical. Depois, elas afundam lentamente usando as antenas como um pára-quedas. As pequenas cerdas plumosas agem como estabilizadoras. O olho é útil para orientar o animal no nado, a nutrição se dá pela captura das partículas em suspensão e a excreção é realizada por glândulas (RUPPERT E BARNES, 1996).

Condições desfavoráveis no ambiente de cultura (tais como variações fora dos limites na temperatura e no fotoperíodo), excesso ou falta de alimento e superpopulação interferem na reprodução das daphnias, favorecendo, muitas vezes, o aparecimento de machos e conseqüentemente de efípios. Estes são ovos fertilizados de resistência, resultantes da reprodução sexuada; neste caso, os procedimentos devem ser reavaliados (BRENTANO, 2006).

Quatro períodos podem ser reconhecidos no ciclo de vida de daphnias: ovo, juvenil, adolescente e adulto. O ciclo de vida do ovo até a morte do adulto varia de acordo com as condições ambientais. Em geral, o ciclo de vida aumenta com o decréscimo da temperatura, em função da diminuição da atividade metabólica. A 20°C a média do ciclo de vida da *Daphnia magna* (de ovo a adulto) é de 56 dias (RAND, 1995).

No período entre 0 e 5 dias os organismos-teste são filhotes. Do sexto ao nono dia, ocorre a preparação para a reprodução, com formação dos primeiros ovos na câmara incubatória. Entre o décimo e o 13º dia, tem-se o ápice da reprodução. No período entre o 14º e o 17º dia, a reprodução é boa, passando a irregular após o 18º dia de teste (BRENTANO, 2006).

3.4. Parâmetros Toxicológicos

3.4.1. Toxicidade Aguda

Os primeiros testes de toxicidade aguda consistiam na exposição de produtos químicos ou efluentes a um número limitado de espécies. Segundo Fonseca (1997), os cientistas Penny e Adams, em 1863, e Weigelt e colaboradores, em 1885, foram alguns dos primeiros autores a realizar esses testes. De acordo com o mesmo autor, Carpenter, em 1924, foi o autor que publicou o primeiro dos trabalhos expressivos de toxicidade do chumbo e zinco.

Toxicidade aguda é a manifestação de um efeito em um curto espaço de tempo após administração de uma dose única de uma substância. Em geral, é o primeiro

estudo realizado sobre uma substância quando não se tem nenhuma noção ou somente noções teóricas, muito restritas, sobre a substância a ser estudada.

O teste de toxicidade aguda determina a concentração do material (substância química ou efluente) que produz um efeito deletério na população exposta durante um curto período de tempo sob condições controladas. Os resultados são expressos em FD (fator de diluição) e em CE₅₀ (concentração de efeito) (RAND, 1995).

No Brasil, para realização de testes agudos com *Daphnia magna*, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) normatizou o uso da espécie através da NBR 12.713 (ABNT, 2003a).

3.4.2. Toxicidade Crônica

Efeito tóxico crônico é definido como efeito deletério causado aos organismos vivos causado por agentes físico-químicos que afetam uma ou várias funções biológicas dos organismos (BRASIL, 2005).

Segundo Rand (1995), os testes crônicos permitem avaliar os possíveis efeitos adversos de uma amostra sob condições de longo tempo de exposição a concentrações subletais.

O objetivo de um estudo de toxicidade crônica é caracterizar o perfil toxicológico de uma substância em uma espécie após uma exposição repetida e prolongada, cobrindo o ciclo de vida de forma representativa (2/3 da vida do animal) incluindo estágios sensíveis como juventude, crescimento, maturidade sexual e reprodução. Nas condições desse ensaio, os efeitos que necessitam de um longo período de latência, tais como os efeitos cumulativos ou a somatização deles, devem se manifestar.

A execução de um teste crônico com a presença de agentes tóxicos permite revelar, a longo prazo, um efeito mais sensível sobre os organismos, sendo importante e complementar ao teste agudo, pois a ausência de efeito agudo não caracteriza ausência de efeito sobre a biota.

O resultado é expresso em Concentração de Efeito Não Observado (CENO), sendo esta a mais alta concentração testada do agente que não provoca efeito quando comparada com o Controle e em Concentração de Efeito Observado (CEO), a mais baixa concentração que causa efeito significativo sobre a população quando comparada ao Controle.

Atualmente, no Brasil, os testes crônicos são citados na Resolução CONAMA nº 357 (BRASIL, 2005) e exigidos para a classificação dos corpos hídricos.

Para a realização de testes crônicos com *Daphnia magna*, não há protocolos definidos e publicados. Para o presente trabalho, levou-se em consideração a NBR 13.373 (ABNT, 2003b), sendo utilizada *Daphnia magna* com testes de fluxo estático realizados em 21 dias, avaliando a reprodução do organismo.

3.5. Parâmetros físico-químicos

3.5.1. Demanda Química de Oxigênio – DQO

Uma das características importantes no estudo das águas naturais e residuárias é seu conteúdo de matéria orgânica. Vários métodos têm sido desenvolvidos para a determinação deste conteúdo, entre os quais a Demanda Química de Oxigênio (DQO), que é a quantidade de oxigênio necessária para oxidar quimicamente a matéria orgânica e inorgânica oxidável de uma água. Na DQO, utilizada como indicador de poluição em corpos hídricos, a oxidação química decompõe matéria orgânica não biodegradável (VON SPERLING, 2005).

3.5.2. Condutividade

Condutividade é a propriedade de um sistema aquoso contendo íons condutores de corrente elétrica. Varia com a concentração total de substâncias ionizadas dissolvidas na água, com a temperatura, mobilidade, valência e com a concentração (específica ou relativa) de cada íon.

A condutividade, medida em Siemens/cm (mho/cm), é um parâmetro muito empregado no monitoramento da qualidade de águas, porque pode ser relacionada com o teor de sólidos dissolvidos. Em laboratório, a condutividade é empregada como critério para verificação da pureza da água destilada, pois, como a água é muito fracamente ionizada, a presença do menor grão de material eletrolítico provoca um grande incremento da condutividade específica.

O método empregado para determinar a condutividade é o do condutímetro. Ele é constituído por uma ponte de Wheatstone e uma cela de condutividade. A cela de condutividade é um sistema formado por dois eletrodos platinizados com 1 cm de lado, mantidos dentro de um tubo de vidro em posições paralelas e à distância de 1 cm entre si.

3.5.3. pH

Segundo Von Sperling (2005), pH é o potencial hidrogeniônico e representa (em escala antilogarítmica) a concentração de íons hidrogênio H^+ , ou seja, pH é o logaritmo em base 10 da concentração de íons hidrônio.

Através do pH, tem-se uma indicação sobre a condição de acidez, neutralidade ou alcalinidade da água. A faixa de pH varia de 0 a 14 e o constituinte responsável encontra-se na forma de sólidos dissolvidos e gases dissolvidos.

O pH tem origem natural em dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica e na fotossíntese e origem antropogênica nos despejos domésticos (oxidação da matéria orgânica) e industriais (lavagem ácida de tanques).

Valores de pH afastados da neutralidade podem afetar a vida aquática, como, por exemplo, de peixes e microrganismos. Dessa forma, esse parâmetro é utilizado com frequência na caracterização de corpos d'água.

Para a interpretação dos resultados, temos:

- $\text{pH} < 7$: condições ácidas;
- $\text{pH} = 7$: neutralidade;
- $\text{pH} > 7$: condições básicas.

Em termos de corpos d'água:

- Valores elevados de pH podem estar associados à proliferação de algas;
- Valores elevados ou baixos podem ser indicativos da presença de efluentes industriais;
- A variação do pH influencia no equilíbrio de compostos químicos.

As propriedades ácidas de uma solução aumentam ao se elevar a concentração de íons hidrônio. Por conseguinte, a concentração de hidrônio é uma medida da acidez ionizada das soluções.

O pH pode ser determinado de várias formas, como, por exemplo: através de indicadores e papéis indicadores, colorimetricamente ou potencialmente. O método utilizado nesta análise para a determinação do pH foi o potenciométrico, e o instrumento, o pH-metro. Este é constituído por eletrodos conjugados (um indicador e outro de referência). O eletrodo de referência possui um potencial constante e o indicador é aquele que adquire o pH da amostra por comparação com o de referência.

3.5.4. *Oxigênio Dissolvido - OD*

Segundo Von Sperling (2005), o parâmetro oxigênio dissolvido indica a quantidade de oxigênio presente em determinada amostra e a forma do constituinte responsável encontra-se como gás dissolvido. É uma variável dependente da pressão atmosférica, temperatura da água e consumo microbiano de oxigênio.

Importante medida no controle de poluição das águas, esse parâmetro indica as condições aeróbicas em um rio. Neste trabalho, por exemplo, os valores de OD devem apontar os níveis de poluição através dos pontos de coleta.

Isso ocorre, pois, em águas poluídas, os microorganismos aeróbicos consomem oxigênio para decompor a matéria orgânica (p.ex.: algas fotossintetizantes e bactérias). Dessa forma, o meio torna-se pobre em oxigênio, causando a morte dos organismos que ali vivem (peixes, algas, etc.). Caso o oxigênio seja totalmente consumido, tem-se as condições anaeróbicas com geração de maus odores.

O oxigênio dissolvido é um parâmetro utilizado com frequência na caracterização de corpos d'água e é expresso na unidade mg/L. Águas poluídas são aquelas que apresentam baixa concentração de oxigênio dissolvido (devido ao seu consumo na decomposição de compostos orgânicos), enquanto que as águas limpas apresentam concentrações de oxigênio dissolvido elevadas, chegando até a um pouco abaixo da concentração de saturação. No entanto, uma água eutrofizada pode apresentar concentrações de oxigênio bem superiores a 10 mg/L, mesmo em temperaturas superiores a 20°C, caracterizando uma situação de supersaturação.

Em termos dos corpos d'água, temos:

- Ao nível do mar, na temperatura de 20°C, a concentração de saturação é igual a 9,2 mg/L;
- Valores de OD superiores à saturação são indicativos da presença de algas (fotossíntese, com geração de oxigênio puro);
- Valores de OD bem inferiores à saturação são indicativos da presença de matéria orgânica (provavelmente esgotos).

3.6. Legislação vigente

Durante as décadas de 50 e 60 houve um constante aumento da legislação dirigida a regulamentar a ampla variedade de substâncias químicas que entram no ambiente em geral. Durante este período, o interesse do público aumentou, incluindo a preocupação com a poluição da água. Uma série de leis foram aprovadas para controlar as descargas industriais às águas.

A Legislação Brasileira, ligada às questões ambientais, sofreu considerável avanço nos últimos anos. Existe um esforço para a padronização de métodos para testes de toxicidade e as normas para a realização de testes de toxicidade com organismos de água doce têm sido amplamente desenvolvidas e implementadas internacionalmente.

No Brasil, a aplicação de tais testes é uma realidade, pois a Resolução CONAMA nº 357 (BRASIL, 2005), que dispõe sobre a classificação de corpos d'água, preconiza a utilização de testes de toxicidade para classificação, avaliação e monitoramento dos corpos d'água e efluentes.

Dois tipos de legislação de controle da poluição de recursos hídricos têm sido adotados: a que estabelece critérios ou padrões para os efluentes líquidos e a que fixa a qualidade da água receptora.

Como o presente trabalho está voltado à avaliação toxicológica da água de três pontos do córrego da UFSC, será observada somente a legislação que fixa critérios ou padrões para as águas dos corpos receptores, não sendo analisados, portanto, os efluentes lançados no córrego, mas sim os efeitos que estes causam na água, admitindo que cada recurso hídrico tem a sua capacidade de assimilar cargas poluidoras.

Todos os rios da Ilha de Santa Catarina, com exceção da foz do Rio Tavares, são classificados como Classe Especial, ou seja, são destinados ao abastecimento público (CERH nº 003/2007). Porém, como na Classe Especial não existem parâmetros, o córrego da UFSC foi analisado como pertencente à Classe 1, ou seja, condições menos severas de proteção do mesmo. Sendo assim, pela norma legal, em rio de Classe 1 não pode ser lançado nenhum efluente, ainda que este efluente esteja tratado (ESTADO DE SANTA CATARINA, 1981).

Desta forma, a tarefa a ser executada está diretamente voltada ao conhecimento das condições toxicológicas do córrego da UFSC nos pontos de coleta, tendo em vista a sua manutenção ou recuperação como Classe 1 (CONAMA nº 357/05).

Segundo a Resolução CONAMA 357 / 2005, CAPÍTULO 1, Art. 2º, inciso I, as águas doces são caracterizadas como águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰ (característica da água do córrego da sub-bacia da UFSC).

No inciso XXI, fica clara a importância dos ensaios toxicológicos para se determinar o efeito deletério de agentes físico-químicos a diversos organismos aquáticos, objetivo maior deste trabalho.

O capítulo II refere-se à classificação dos corpos de água e, no Art. 4º, inciso II, “Das Águas Doces”, tem-se que as águas de Classe 1 podem ser destinadas:

- a) Ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;
- b) À proteção das comunidades aquáticas;
- c) À recreação de contato primário, tais como: natação, esqui aquático e mergulho - conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;
- d) À irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvem rentes ao solo e que são ingeridas cruas sem remoção de película;
- e) À proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.

A mesma Resolução CONAMA 357 / 2005 descreve em seu Art. 8º, parágrafo 3º, que a qualidade dos ambientes aquáticos poderá ser avaliada por indicadores biológicos, quando apropriado, utilizando-se organismos e/ou comunidades aquáticas.

O parágrafo 4º diz que as possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados na resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos.

No Art. 14, inciso I, tem-se que as águas doces de Classe 1 observarão as seguintes condições de qualidade de água:

- a) Não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
- b) DBO 5 dias a 20°C até 3 mg/L O₂;
- c) OD, em qualquer amostra, não inferior a 6 mg/L O₂;
- d) pH: 6,0 a 9,0.

A Legislação Federal Resolução CONAMA 357 / 2005 não aborda o parâmetro DQO (Demanda Química de Oxigênio), porém, como matéria orgânica, sua análise torna-se importante.

Essa Legislação Ambiental trata de um outro parâmetro para a quantificação da matéria orgânica ou do seu potencial poluidor, conhecido como DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio). É um parâmetro de grande importância na caracterização do grau de poluição de um corpo d'água, ou seja, um padrão de qualidade para corpos d'água doce.

No presente trabalho foi realizado somente o ensaio de DQO e não de DBO. Foi feita, portanto, uma relação $DBO / DQO = 0,5$, na qual verificou-se, aproximadamente, o valor de DBO encontrado e observou-se, pela Legislação, se a amostra estava atendendo ao padrão, ou seja, se a amostra encontrava-se coerente ao padrão de qualificação para a Classe 1 de água estabelecida pelo CONAMA 357 / 2005.

Segundo o Art. 34, parágrafo 1º, da mesma Resolução, o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no

corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

No mesmo Art. 34, citado acima, porém, no parágrafo 2º, revela-se que os critérios de toxicidade previstos no parágrafo 1º devem se basear em resultados de ensaios toxicológicos padronizados, utilizando organismos aquáticos e realizados no efluente.

O Decreto Estadual nº 14.250, de 05 de junho de 1981 (ESTADO DE SANTA CATARINA, 1981), em seu Art. 19, define as condições que os efluentes, de qualquer atividade, poderão ser lançados no ambiente. Este define, também, que os efluentes líquidos não deverão conferir ao corpo receptor características em desacordo com os critérios e padrões de qualidade de água adequados aos diversos usos benéficos previstos para o corpo hídrico.

Assim, de acordo com o Art. 11, do referido Decreto, em águas de Classe 1 não serão tolerados lançamentos de qualquer efluente, ainda que tratado.

4. METODOLOGIA

Os testes de toxicidade aguda e crônica foram realizados no Laboratório de Toxicologia Ambiental da UFSC (LABTOX) e os testes físico-químicos como Demanda Química de Oxigênio (DQO), condutividade, pH e Oxigênio Dissolvido (OD), no Laboratório Integrado do Meio Ambiente (LIMA), ambos pertencentes ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC, e que dispõem de tecnologia adequada para amostragem e análise da água.

Os parâmetros físico-químicos da água citados foram analisados para servirem de subsídios para a interpretação dos dados biológicos.

4.1. Caracterização da área em estudo

O presente trabalho trata a respeito do estudo da qualidade da água da Bacia do *Campus* da UFSC. Tal Bacia mede, aproximadamente, 4 km² e encontra-se inserida na Bacia do Itacorubi (localizada na parte leste da Ilha de Santa Catarina, no Município de Florianópolis, entre as coordenadas de 27°34'07" – 27°37'57" de Latitude Sul e 48°28'25" – 48°33'00" de Longitude Oeste) (Figura 3 e Figura 4).

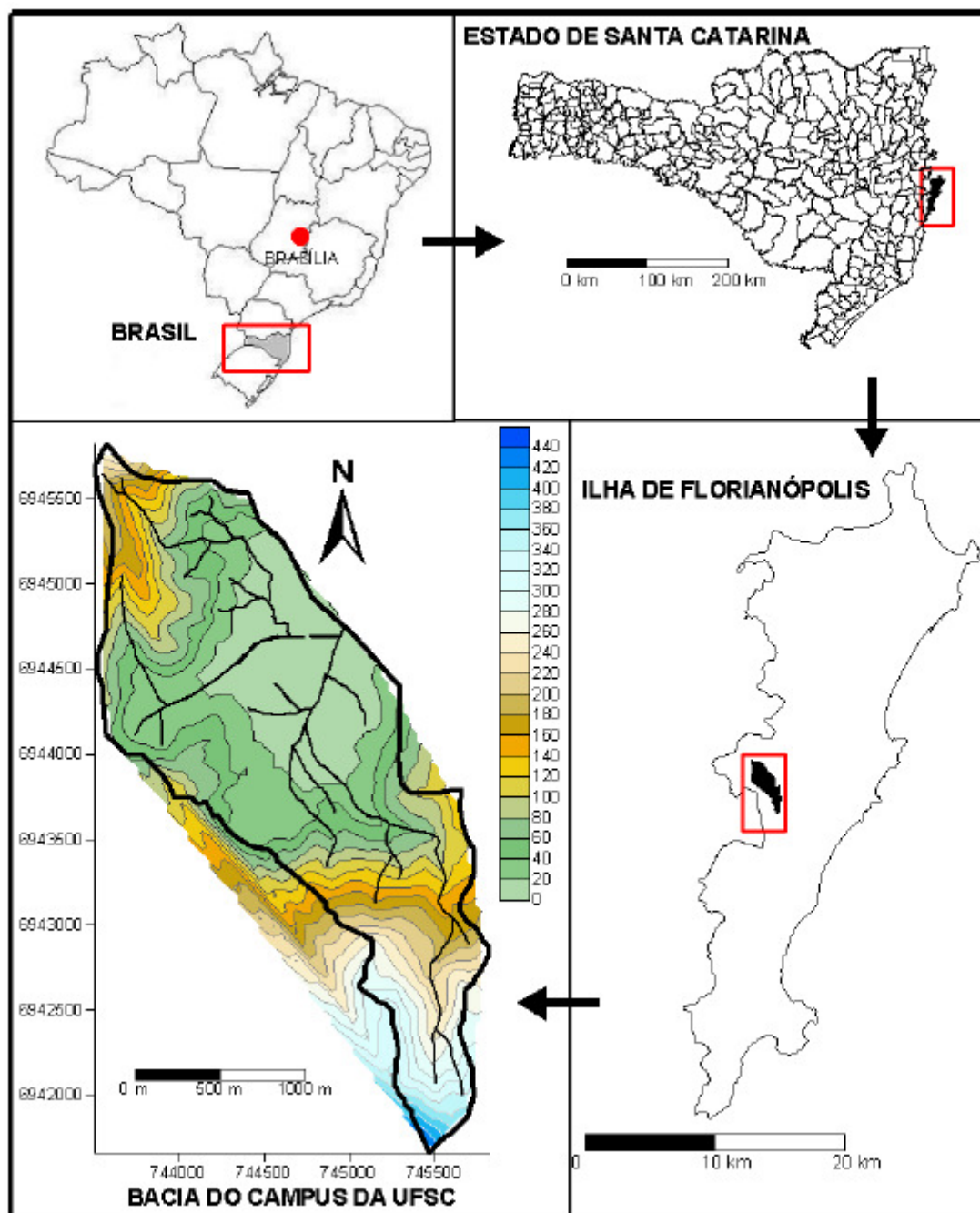


Figura 3: Micro-bacia do *Campus* da UFSC
Fonte: ENS 5151 - UFSC (2005)

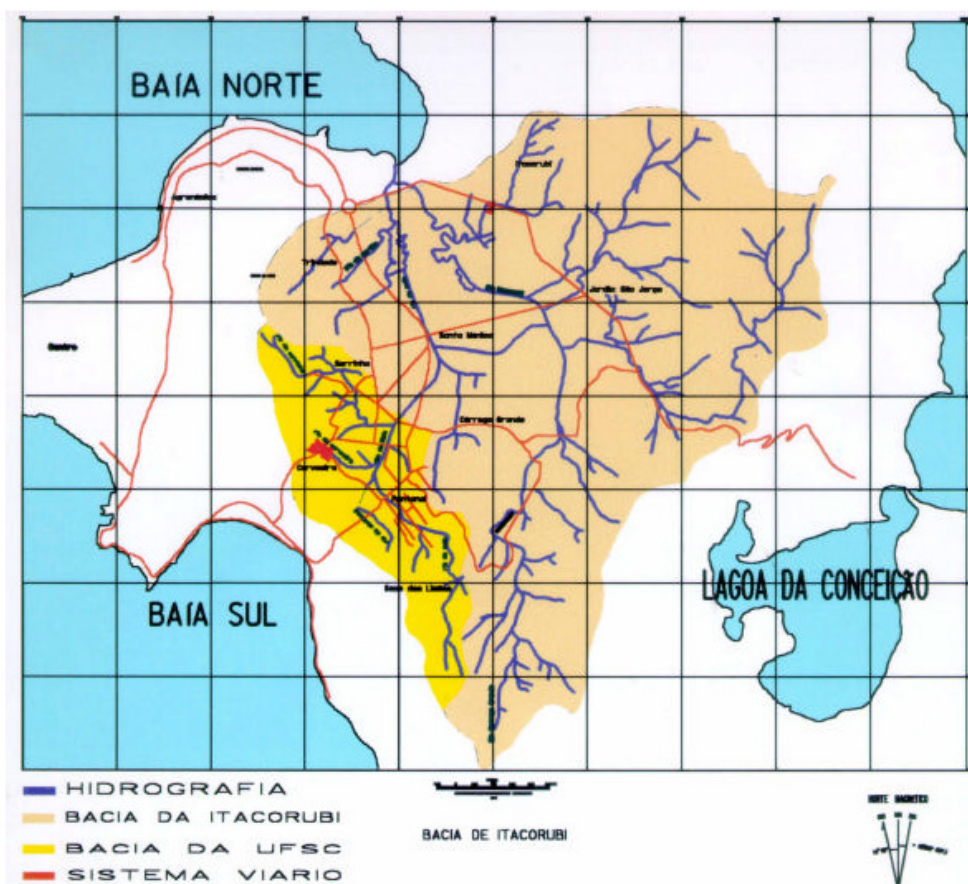


Figura 4: Micro-bacia do *Campus* da UFSC inserida na Bacia do Itacorubi (sem escala)

Fonte: Projeto Bacia Escola do *Campus* da UFSC (1999)

O canal principal desta sub-bacia de estudo está situado desde a nascente (340 m) até a foz (5 m), sendo tributário do Rio Três Córregos, que deságua na Baía Norte. Dentro dos limites da UFSC, este curso d'água é chamado de Rio do Meio (Figura 5).

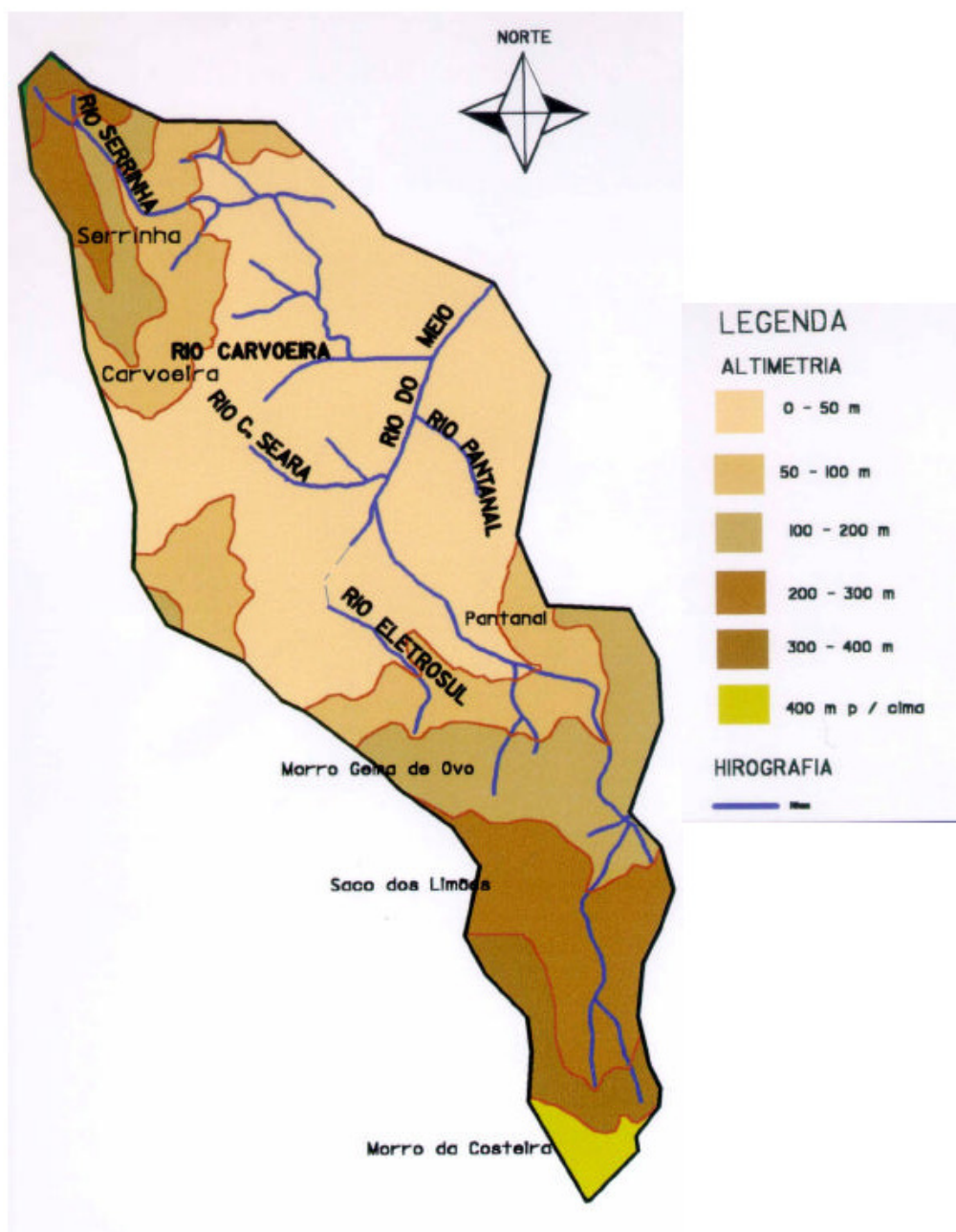


Figura 5: Localização do Rio do Meio na sub-bacia da UFSC (sem escala)

Fonte: Projeto Bacia Escola do *Campus* da UFSC (1999)

O primeiro ponto (ponto 1) de coleta de água (Figura 6) foi na nascente da micro-bacia do *Campus* da UFSC e localiza-se ao final da Rua Frederico Veras, no Bairro Pantanal, próximo à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

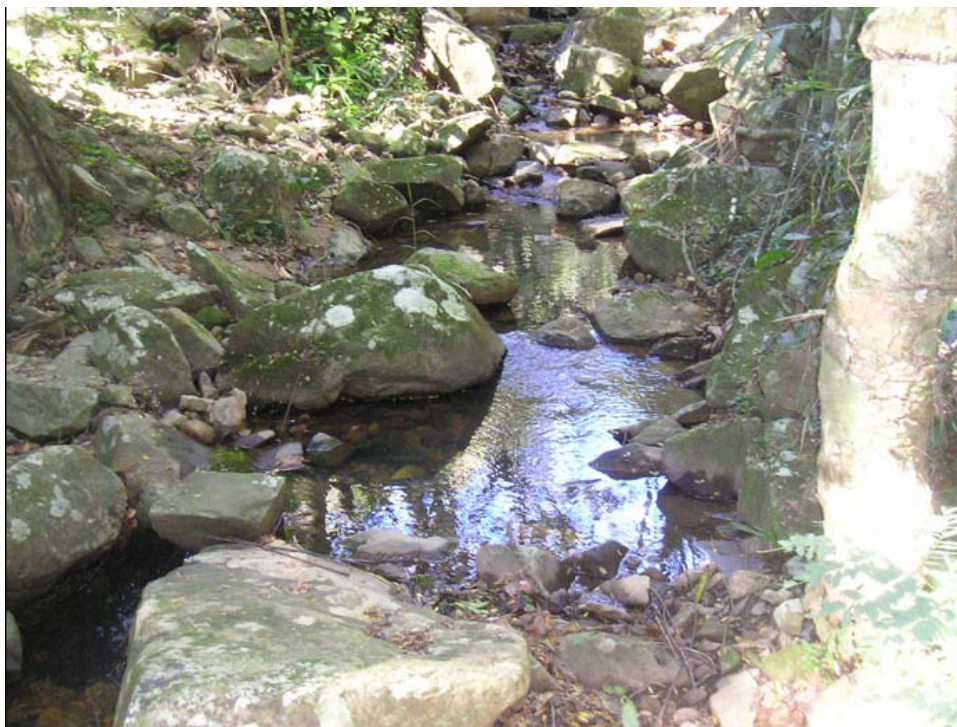


Figura 6: Ponto de coleta da amostra de água na nascente da Bacia do *Campus* da UFSC
Fonte: ENS 5151 - UFSC (2005)

No ponto de coleta 1, citado acima, existe pouca movimentação de pessoas. O local não é de fácil acesso e deve-se caminhar alguns metros mata adentro, que demonstrava-se bem conservada, distante de residências ou de qualquer fonte de contaminação.

O corpo d'água caracteriza-se por um leito rochoso de fluxo regular e bem encoberto pela mata ciliar, como é próprio das regiões de Mata Atlântica. Este corpo hídrico possui sucessivas e pequenas quedas d'água que permitem uma boa oxigenação, sendo nítida sua transparência. Devido à mata ciliar densa, existem alguns resíduos naturais no local, como, por exemplo, folhas, galhos e outros.

Com a água recolhida desse local foram realizados os testes de: Toxicidade Aguda, teste de Demanda Química de Oxigênio (DQO), teste de Condutividade, de pH e de Oxigênio Dissolvido (OD).

O ponto 2 de coleta de água (Figura 7) é localizado atrás da reitoria da UFSC, junto ao prédio da Engenharia Mecânica. Conforme a figura 7, pode-se notar o lançamento de efluentes no curso d'água. Esse fato é muito importante e deve ser considerado ao analisar os dados obtidos em laboratório.

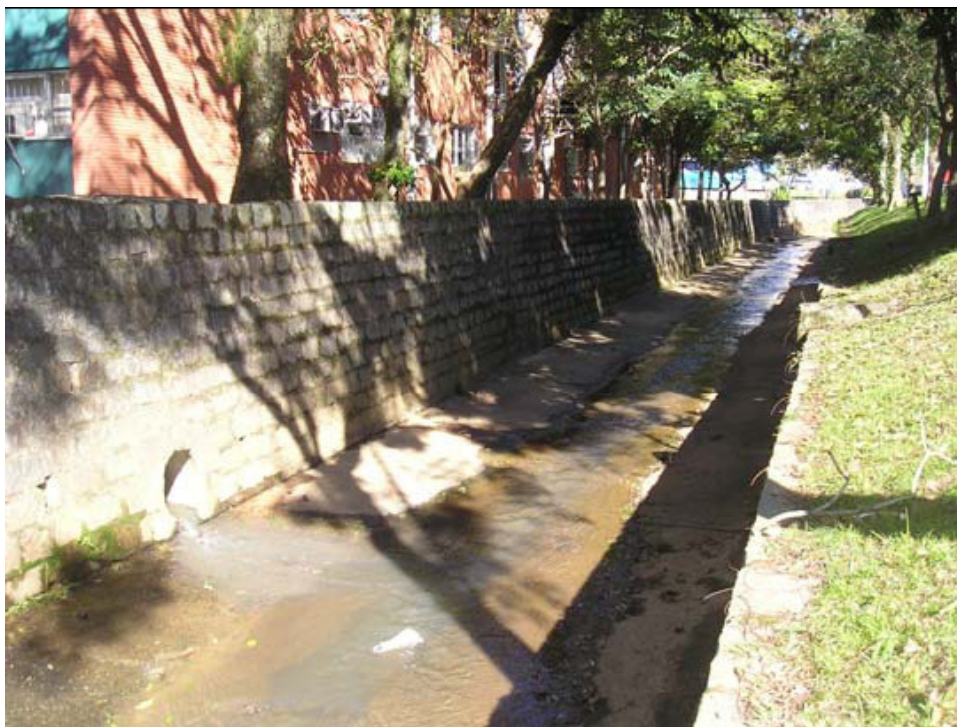


Figura 7: Ponto de coleta de água localizado atrás da Reitoria da UFSC
Fonte: ENS 5151 - UFSC (2005)

Com a água recolhida desse ponto, foram realizados os testes de: Toxicidade Aguda, teste de Demanda Química de Oxigênio (DQO), teste de Condutividade, de pH e de Oxigênio Dissolvido (OD).

O ponto 3 de coleta de água é o último ponto (figura 8) de coleta das amostras de água e está localizado entre uma via e o bar do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFSC. Além da ocupação desordenada próxima ao córrego em virtude do crescimento urbano, e a falta de rede de esgoto, a via é muito movimentada podendo ocorrer algum tipo de lançamento de resíduos no local.

Com a água recolhida desse local, foram realizados os testes de: Toxicidade Aguda, teste de Toxicidade Crônica, teste de Demanda Química de Oxigênio (DQO), de Condutividade, de pH e de Oxigênio Dissolvido (OD).



Figura 8: Ponto de coleta de água do final do córrego da UFSC
Fonte: ENS 5151 - UFSC (2005)

4.2. Coleta, armazenamento e preservação das amostras

Para a coleta foram utilizadas garrafas “pet” de dois litros. Foram lavadas com a água do local de coleta cerca de três vezes e em seguida preenchidas com a água (preferencialmente totalmente preenchidas, para minimizar a presença de ar) para análises e avaliações.

As coletas das amostras foram feitas em dia de baixa vazão de água no córrego, para se coletar a água no seu estágio mais concentrado de possíveis agentes tóxicos. Foi realizada somente uma coleta das amostras de água da nascente, meio e final do córrego no dia 06/05/08. Porém, como houve a necessidade de repetição do teste de toxicidade aguda para o meio e final do córrego, e as amostras de água desses pontos já haviam acabado, novas amostras foram coletadas no dia 11/06/08 nas mesmas condições climatológicas.

As amostras foram coletadas para ensaios imediatos, devido à grande proximidade dos pontos de coleta com os laboratórios. Quando isso não foi possível pela falta de filhotes de daphnias para os testes, ou pela realização do teste de toxicidade crônica, as amostras de água do córrego foram mantidas refrigeradas ou congeladas, com temperatura ideal para a sua conservação antes dos ensaios.

O controle de qualidade necessário aos experimentos inclui desde a calibração de equipamentos utilizados e cuidados especiais na coleta, até o armazenamento, transporte e processamento das amostras.

4.3. Cultivo de *Daphnia magna*

O LABTOX cultiva *Daphnia magna* desde 1996 para a realização de suas pesquisas. A metodologia de cultivo desse organismo-teste seguiu o descrito na NBR

12.713 (2003). O método de cultivo objetiva a manutenção do organismo teste em laboratório, sob condições que permitam a avaliação da toxicidade de amostras de efluentes líquidos, águas superficiais ou subterrâneas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água. Para o crescimento dos organismos foram utilizados recipientes com Meio de cultura M4.

Os organismos foram alimentados diariamente com cultura algácea de *Scenedesmus subspicatus*, produzida pelo LABTOX conforme ISO 8692 (1989). Cada lote comportou de 15 a 20 indivíduos, exclusivamente fêmeas. As fêmeas se reproduzem por partenogênese, o que garante que os organismos sejam clones uns dos outros. As culturas foram mantidas em ambiente com temperatura controlada a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e em fotoperíodo de 16 horas de luz. Os lotes receberam manutenção três vezes por semana, havendo troca do meio de cultura, eliminação dos restos de carapaças e retirada dos filhotes.

Todos os procedimentos relativos à cultura das daphnias se refletem na sua sensibilidade, cuja estabilidade é essencial. A sensibilidade do organismo teste foi avaliada através de ensaios com a substância de referência dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), realizado conforme a metodologia descrita segundo a ISO 6341 (1996), visando assegurar a qualificação dos mesmos dentro dos padrões internacionais, bem como garantir a validação dos testes realizados. Desde o ano de 2000, a sensibilidade dos cultivos de *Daphnia magna* do LABTOX vem sendo avaliada e a CE_{50} 24h média obtida durante o período de realização deste estudo, enquadrou-se na faixa de sensibilidade considerada aceitável para uso na realização dos testes.

Quanto ao dicromato de potássio, a norma ISO 6341 indica para *Daphnia magna* valores-limite de sensibilidade na faixa de 0,6 mg / L a 1,7 mg / L de CE_{50} em 24 horas.

4.4. Duração do tratamento

Dependendo do objetivo do ensaio toxicológico e das condições da experiência, certos efeitos aparecem rapidamente e podem ser evidenciados com apenas um contato com o produto a ser testado, ou aparecem somente a longo termo, após contatos repetidos com tal produto.

Para se fixar a duração do tratamento, depende-se, portanto, do tipo de ensaio e da espécie considerada. Espécies diferentes têm diferentes longevidades.

Os métodos de testes de toxicidade aquática podem ser categorizados de acordo com o tempo de exposição, situação de teste, efeitos a serem avaliados e organismos a serem testados (RAND, 1995).

Neste contexto, levando-se em consideração o tempo de exposição, os testes de toxicidade aquática podem ser classificados, segundo Rand (1995) e Knie e Lopes (2004), em testes de toxicidade aguda e testes de toxicidade crônica.

4.5. Testes realizados

4.5.1. Teste de toxicidade aguda para amostras de água

O ensaio de toxicidade aguda permite:

- Estabelecer uma relação entre a dose administrada e a intensidade de efeitos adversos observados;
- Calcular a concentração de efeito CE_{50} , que é a concentração da substância que provoca a morte ou imobilidade a 50% da população exposta num período de tempo;
- Orientar outros ensaios.

O valor da CE_{50} é utilizado para a classificação de substâncias tóxicas e para estimar o potencial de inibição e indução de sínteses biológicas por substâncias tóxicas.

O teste de toxicidade aguda mostra a toxicidade de um xenobiótico sobre um organismo-teste durante uma breve exposição (horas ou dias). É um teste tipicamente associado à destruição dos tecidos ou de sistemas fisiológicos a uma velocidade que supera a velocidade de reparação ou de adaptação levando à letalidade.

Condições para os testes de toxicidade aguda com *Daphnia magna*:

- ✓ Espécie: *Daphnia magna*;
- ✓ Tempo de exposição: 24 e 48 horas;
- ✓ Número de indivíduos: 10 (em duplicata);
- ✓ Temperatura: $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$;
- ✓ Oxigênio Dissolvido: $> 2 \text{ mg/L}$;
- ✓ Critério de avaliação: Imobilidade.

O valor de FD (Fator de Diluição) é determinado através de observação direta dos resultados, que é o valor da menor diluição da amostra na qual não ocorre a imobilidade das daphnias. O resultado é igual ao fator de diluição observado.

O valor da concentração de efeito CE_{50} foi calculada através do programa de computador Trimmed Sperman-Karber Method (HAMILTON, 1977). Como trata-se de amostras de concentração desconhecidas, como, por exemplo, efluentes líquidos, os valores foram expressos em porcentagem (%).

A metodologia do teste agudo com o organismo-teste *Daphnia magna* seguiu o descrito na NBR 12.713 (ABNT, 2003a) e as amostras coletadas foram testadas baseando-se na exposição de neonatos de *Daphnia magna*, de 2 a 26 horas de idade, em diluições da amostra.

A partir das amostras de água do córrego da UFSC, para cada teste foram preparadas 5 diluições (solução-teste) e um Controle. As diluições foram preparadas com precisão volumétrica.

Tanto no Controle quanto no diluente foi utilizada água de diluição, também chamada de “Meio ISO” ou “Meio Básico”. O Meio ISO contém os sais essenciais característicos da água natural (Ca, Mg, K, Na) adicionados à água deionizada, como descrito na norma ISO 6341 (ISO, 1996).

Após o preparo, a água de diluição foi aerada por pelo menos 12 horas para solubilização total dos sais, saturação do oxigênio dissolvido e estabilização do pH. Foram observados os valores de oxigênio dissolvido, pH e dureza total antes da utilização da água de diluição.

Cada diluição foi colocada em 2 béqueres de 25 mL, com aproximadamente 25 mL de solução-teste em cada um. Foram testados 20 organismos por diluição, tendo sido expostos 10 em cada béquer. No béquer de Controle, a imobilidade aceita foi de, no máximo, 10%.

Este esquema pode ser observado na figura 9.

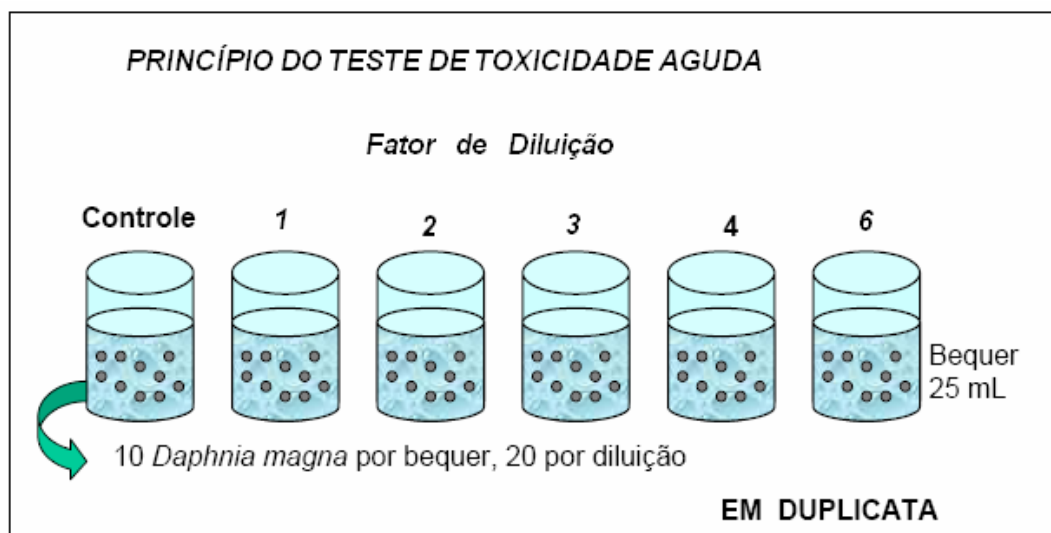


Figura 9: Metodologia do teste de toxicidade aguda com *Daphnia magna*

Os organismos-teste foram adicionados aos béqueres, fazendo-se a distribuição sempre da menor para a maior concentração do agente tóxico, iniciando-se pelo Controle. Os frascos foram cobertos com filme de PVC, levados para a germinadora de teste e mantidos de 18°C a 22°C, não tendo, as daphnias, recebido alimentação ou iluminação.

Após o tempo de prova (24 e 48h), observou-se o número de indivíduos imóveis por concentração. A partir desses dados, calculou-se a porcentagem de imobilidade por concentração.

4.5.2. Teste de toxicidade crônica para amostras de água

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade crônica permitem avaliar:

- A latência de aparecimento dos efeitos em função da dose ou da concentração;
- A dose única sem efeitos tóxicos e a dose com efeitos tóxicos.

A escolha das doses (concentrações) é em função dos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda, e os organismos-teste são observados regularmente de maneira a detectar todas as manifestações tóxicas.

Os testes estatísticos apropriados são aplicados sistematicamente aos resultados. Esses testes devem ser interpretados com prudência e espírito crítico.

Para realizar os testes, são utilizados organismos jovens, com 2 a 26 horas de idade, obtidos a partir da quarta postura de fêmeas cultivadas. O método consiste na

exposição dos organismos jovens da espécie *Daphnia magna* a várias diluições da amostra por um período de 21 dias.

Neste trabalho foi feito somente um ensaio de toxicidade crônica da amostra de água do final do córrego (ponto 3), o qual foi realizado com 4 diluições da amostra, além do Controle (somente água reconstituída - Meio M4). As diluições (soluções-teste) foram preparadas com precisão volumétrica. Para cada diluição foram utilizadas 10 réplicas, dispondo, individualmente, 10 organismos jovens de *Daphnia magna* em béqueres de 25 mL. Cada béquer foi coberto com filme de PVC para evitar a evaporação e contaminação do teste com possíveis resíduos suspensos no ar. Este esquema pode ser observado na figura 10.

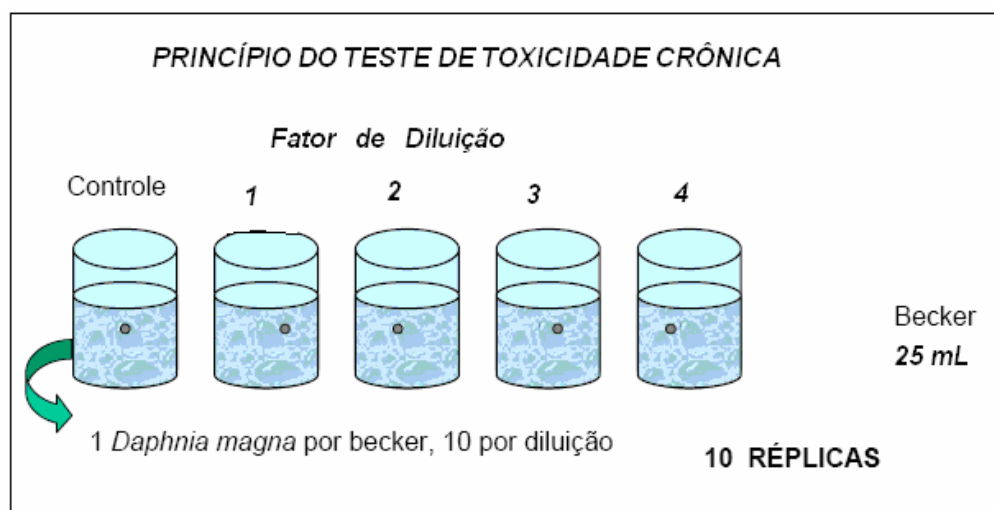


Figura 10: Esquema do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*.

No preparo do teste foi utilizada água reconstituída como diluente (Meio M4), constituído de elementos-traço e vitaminas desenvolvidos especialmente para atender às necessidades vitais das daphnias. As soluções-teste foram preparadas no momento da exposição do organismo, utilizando-se as devidas proporções de amostra e água reconstituída.

O organismo-teste foi exposto à solução-teste, sendo transferido de forma a evitar a alteração da concentração final da mesma. Para tal, foi utilizado um coletor de microcrustáceo (artefato semelhante à pipeta volumétrica de 25 mL, cortada na extremidade inferior) a fim de não causar dano ou estresse aos indivíduos. Foi tomado o cuidado de liberar o organismo próximo da superfície da solução para evitar a entrada de ar sob sua carapaça e conseqüente flutuação.

Os testes foram mantidos nas mesmas condições ambientais que os lotes de cultivo, em temperatura de 18°C a 22°C. Os organismos-teste foram alimentados nos dias das trocas das soluções-teste com algas unicelulares, no caso, a alga clorofícea *Scenedesmus subspicatus*, em concentrações próximas a 10^7 células / mL. A alimentação das daphnias exclusivamente com algas unicelulares foi suficiente, especialmente quando a cultura é feita em Meio enriquecido, como o M4.

Os organismos foram acompanhados durante o teste, na primeira semana com observações diárias e, após este período, com leituras três vezes por semana, em dias intercalados. Nesses momentos, foram observados a sobrevivência e número de jovens gerados por fêmea.

Na leitura, também foi substituída a solução-teste antiga (com 48h), tendo-se o cuidado das soluções-teste estarem na temperatura de 18°C a 22°C no momento da transferência dos organismos. Em cada troca da solução-teste, foram retiradas do béquer a daphnia adulta e as daphnias jovens. As daphnias adultas foram temporariamente colocadas em um recipiente livre de contaminação (Meio M4). A solução-teste contida no béquer foi descartada, higienizando-se o béquer com água destilada e adicionando-se a este uma nova alíquota de solução-teste. Foram contadas, registradas e descartadas as daphnias jovens sendo transferidas somente as daphnias adultas para o béquer. Esse procedimento evita que os metabólitos alterem a qualidade do ambiente, mascarando os resultados ou a disputa por espaço e alimento. As daphnias jovens encontradas mortas ou imóveis não foram contabilizadas e os parâmetros analisados na execução do teste foram: longevidade e fecundidade.

Longevidade é o tempo de vida de um organismo sob determinado conjunto de condições de desenvolvimento (FONSECA, 1991). Nos experimentos, esse parâmetro é obtido pelo acompanhamento da sobrevivência dos organismos até o final do teste, expressando o parâmetro em número de daphnias sobreviventes após 21 dias.

A fecundidade é avaliada pela contagem dos neonatos gerados pelas fêmeas no período de 21 dias. Como parâmetro, é utilizada a média de filhotes gerados por fêmea, considerando o número de posturas ao longo do teste. Esta média é obtida pela equação 1.

$\text{Média} = \frac{\text{nº total de filhotes}}{\text{nº de mães} \times \text{nº de posturas}}$	Equação 1
-----------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------

Para a realização deste cálculo, quando a fêmea morre antes do 18º dia de teste, não se considera essa mãe e exclui-se o número de filhotes que ela produziu até então. Após esse período, a reprodução é muito flutuante e a ausência de filhotes não interfere nos dados levantados.

No caso de existir um macho entre os organismos-teste adultos, deve-se usá-lo como dado para a avaliação da longevidade, mas não se pode entrar nos dados de fecundidade.

Os resultados para longevidade e fecundidade obtidos nas diferentes soluções-teste são comparados aos resultados dos Controles. Assim, pode-se encontrar a concentração de efeito não observado (CENO) e a concentração de efeito observado (CEO) nas condições de ensaio (NBR 13.373, 2003). A CENO e a CEO são expressas em porcentagem.

Visando comparar as médias de longevidade e fecundidade geradas em cada diluição com as médias obtidas no Controle do teste, aplicou-se a análise estatística de acordo com a recomendação da EPA 821-R-02-013 (EPA, 2002a). Desta forma, utilizou-se o software EMSL Cincinnati Dunnet *version* 1.5 (EPA, 2007).

Para se descobrir os critérios de validação do teste de toxicidade crônica, considerou-se a metodologia citada por Terra e Feiden (2003).

4.5.3. *Teste de Demanda Química de Oxigênio – DQO*

- Princípio do Método utilizado: Standard Methods, 21^a ed. Washington, 2005;

Muitos tipos de matéria orgânica são oxidados quando aquecidos com uma mistura de ácidos crômico e sulfúrico. Uma amostra é aquecida em frasco fechado em meio fortemente ácido com uma quantidade conhecida e em excesso de dicromato de potássio. Depois da digestão, o dicromato reduzido é medido contra padrões a 600 nm (nanômetros), usando um espectrofotômetro uv e o resultado é expresso em DQO como mg O₂ / L.

As amostras devem ser coletadas em frascos de vidro ou de plástico. O volume necessário de cada amostra é de 200 mL. As amostras são analisadas imediatamente após a coleta, porém, quando isso não ocorre, podem ser preservadas por até 7 dias pela adição de ácido sulfúrico concentrado até obtenção de pH inferior a 12.

Os materiais utilizados foram:

- Tubos de borossilicato de 16 x 100 mm, com tampas de rosca de *teflon*;
- Bloco de aquecimento, com aberturas para introdução dos tubos ou opcionalmente autoclave;
- Espectrofotômetro para uso em 600 nm.

Os procedimentos foram:

- Adicionar 3,5 mL de solução de Reagente de H₂SO₄ (Ag₂SO₄ + H₂SO₄) com uma pipeta e 1,5 mL de Solução de Digestão (K₂Cr₂O₇ + HgSO₄) em um tubo de borossilicato com rosca;
- Adicionar 2,5 mL de amostra ao tubo, fechar e homogeneizar vigorosamente. Fazer o mesmo procedimento para o Branco, adicionando-se 2,5 mL de água deionizada;
- Colocar os tubos no bloco de digestão com o timer para 120 min; deixar em digestão; ao terminar, deixar esfriar os tubos e ler, no espectrofotômetro, a absorbância em 600 nm e comparar com a curva de analítica.

4.5.4. *Teste de Condutividade*

As etapas do procedimento foram:

- Lavar a célula de condutividade com água destilada;
- Mergulhar a célula na amostra, fazendo um ligeiro movimento rotativo para expelir bolhas de ar;
- Ligar o interruptor, girar o *dial* até se obter uma deflexão nula no micro-amperímetro, e efetuar a leitura na escala;
- Lavar a célula novamente antes de guardá-la.

4.5.5. *Teste de pH*

As etapas do procedimento foram:

- Calibrar o aparelho com solução-tampão de pH 7;
- Lavar o eletrodo com água destilada;
- Calibrar novamente com solução-tampão de pH 4, lavando o eletrodo outra vez com água destilada;
- Após a calibração do aparelho, a medida é feita diretamente mergulhando-se o eletrodo na amostra e determinando-se, assim, o valor do pH correspondente.

4.5.6. *Teste de Oxigênio Dissolvido – OD*

As etapas do procedimento foram:

- Retirar o eletrodo de dentro da capa de proteção, desatarrachando-o até que o mesmo se livre;
- Ligar a tecla *ON/OFF* e aguardar os procedimentos de *check list* do equipamento;
- Colocar o eletrodo até que a membrana fique submersa na solução de estudo;
- Apertar a tecla O_2 para seleção do modo de saturação, podendo ser “%” ou “mg/L”;
- Apertar a tecla AR e em seguida apertar a tecla *RUN/ENTER*;
- No visor do equipamento, observar o momento em que o sinal AR parar de piscar;
- Anotar os valores encontrados para a temperatura da água e para o OD.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Análises Físico-químicas

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises físico-químicas das amostras, realizadas 06/05/08, o dia da coleta.

Tabela 1: Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas no córrego da UFSC

Parâmetros	Ponto 1 (Nascente)	Ponto 2 (Meio)	Ponto 3 (Final)
OD (mg/L)	7,1	4,7	2,2
DQO (mg/L)	0	10	10
Condutividade (mS)	0,0468	0,207	0,246
pH	7,20	7,38	7,62

DBO 5 (calculada)	0	5	5
-------------------	---	---	---

Observando-se os resultados da tabela acima, nota-se leve variação entre os pontos, para o parâmetro pH.

O valor obtido para o Oxigênio Dissolvido (OD) no ponto 1, tomado como nascente, é consideravelmente maior do que os outros pontos analisados, o que faz sentido, pois águas puras são quase isentas de decomposição de compostos orgânicos. Além disso, conhecendo o local, é possível afirmar que existe aeração natural das águas através de pequenas quedas as quais o curso d'água é submetido. Por isso, pode-se excluir a possibilidade de que a taxa encontrada de OD indique situação de supersaturação do meio.

Já para os outros pontos, a diminuição da taxa de OD indica atividade microbiana, a qual consome oxigênio presente na água para a degradação de possíveis efluentes provenientes de ligações clandestinas de esgotos ou de outras rotas de contaminação.

A condutividade da amostra da nascente é quase nula (0,0468 mS), mas esse valor aumenta consideravelmente no meio e no final do córrego. Esse aumento de condutividade pode ocorrer devido ao esgoto depositado, já que a condutividade está ligada ao teor de sólidos dissolvidos na água.

O parâmetro DQO indica existência de matéria orgânica na água, ou seja, presença de poluição no corpo hídrico. Tal fato não é constatado na nascente do córrego, mesmo porque o ponto de coleta encontra-se isolado mata adentro, porém constata-se DQO nos pontos de coleta intermediário e final.

Para a amostra do ponto de coleta 1 (Nascente do Rio do Meio), todos os parâmetros físico-químicos analisados em laboratório estão de acordo com os valores estabelecidos pela legislação (CONAMA nº 357/05), ou seja, tais parâmetros

encontram-se coerentes aos padrões de qualificação para águas de Classe 1. Tal fato ocorre pois o local não sofre ação antrópica.

Em relação à amostra do ponto de coleta 2, os parâmetros Oxigênio Dissolvido (OD) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO 5) não estão de acordo com os valores estabelecidos pela legislação (CONAMA n° 357/05) para águas de Classe 1, ou seja, a partir deste local de coleta as influências das ligações clandestinas de esgoto começam a ficar evidentes. Deve-se lembrar que a DBO 5 foi calculada como sendo a metade do valor encontrado para a Demanda Química de Oxigênio (DQO).

A amostra do ponto de coleta 3, localizado mais a jusante do córrego, demonstra uma situação mais agravante em relação ao ponto de coleta 2, a montante, pois a quantidade de Oxigênio Dissolvido (OD) decresce ainda mais, continuando, esse parâmetro citado e a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO 5), a não atender à legislação (CONAMA n° 357/05) para águas de Classe 1.

O parâmetro pH atende à legislação citada em todos os pontos de análise do córrego da sub-bacia da UFSC.

Se observarmos o Rio do Meio como um todo, fica claro o não atendimento ao Decreto Estadual n° 14.250/81 (Estado de Santa Catarina), cujo Art. 11 diz: “Em águas de Classe 1, não são tolerados lançamentos de qualquer efluente, mesmo tratado.”, e conseqüente desacordo também com os padrões de qualidade para águas de Classe Especial.

Deve-se lembrar que existe rede coletora de esgotos na UFSC além das coletas de efluentes nos laboratórios.

5.2 – Toxicidade aguda

O teste de toxicidade aguda para amostra de água da nascente do córrego da UFSC foi realizado com 5 diluições, compostas por 2 réplicas cada, e um Controle. Decidiu-se trabalhar com as diluições 100%, 50%, 33,33%, 25% e 16,66%.

Os resultados obtidos com o teste, utilizando-se *Daphnia magna*, estão apresentados na Tabela 2 (tabela utilizada para anotações em laboratório, 24 e 48h após o início do teste).

Com os dados encontrados, pode-se notar a imobilidade de somente uma daphnia nas concentrações 50% e 33,33%. Porém, foi adotada uma taxa de imobilidade aceitável de 10%, o que desconsidera essas mortes no resultado final. As imobilidades observadas podem ter sido provocadas por um manuseio não cuidadoso das daphnias, e não pelo resultado do efeito tóxico da água, afinal, esses organismos-teste são muito sensíveis.

Desta forma, nessa amostra, não existe uma concentração de efeito CE₅₀ que provoque a morte ou imobilidade a 50% da população exposta. Já a menor diluição da amostra onde não ocorre a imobilidade das daphnias é a concentração 100%, ou seja, Fator de Diluição 1.

Uma vez que o teste de toxicidade aguda revela ausência de toxicidade aguda para a amostra de água da nascente, pode-se afirmar que este local de coleta atende à legislação (CONAMA n° 357/05) para águas de Classe 1, no tocante à proteção das comunidades aquáticas, como também para águas de Classe Especial, no tocante à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

Tabela 2: Teste de toxicidade aguda da água da nascente do córrego

Universidade Federal de Santa Catarina
 Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
 LABTOX - Laboratório de Toxicologia Ambiental
TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

INFORMAÇÕES

Data da Coleta: 06/05/08
 Coletor: Cristiano Maluf
 Amostra: Nascente do córrego

Data do Teste: 07/05/08
 Hora de Início do Teste: 13h 45

		Nº DE ORGANISMOS IMÓVEIS			
FD	Concentração	24 HORAS		48 HORAS	
		A	B	A	B
	Controle	0	0	0	0
1	100%	0	0	0	0
2	50%	0	0	1	0
3	33,33%	0	0	0	1
4	25%	0	0	0	0
6	16,66%	0	0	0	0

CE 50 calculada: Não Tóxica

FD: 1

Os testes de toxicidade aguda para amostras de água do meio e do final do córrego foram realizados também com 5 diluições, compostas por 2 réplicas cada, e um Controle. Trabalhou-se com as diluições 100%, 50%, 33,33%, 25% e 16,66%.

Os resultados obtidos com os testes, utilizando *Daphnia magna*, estão apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3: Teste de toxicidade aguda da água do meio do córrego (1° teste)

Universidade Federal de Santa Catarina					
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental					
LABTOX - Laboratório de Toxicologia Ambiental					
<u>TESTE DE TOXICIDADE AGUDA</u>					
INFORMAÇÕES					
Data da Coleta: 06/05/08			Data do Teste: 13/05/08		
Coletor: Cristiano Maluf			Hora de Início do Teste: 15h 16		
Amostra: Meio do córrego					
Nº DE ORGANISMOS IMÓVEIS					
FD	Concentração	24 HORAS		48 HORAS	
		A	B	A	B
	Controle	0	0	0	0
1	100%	0	0	1	0
2	50%	0	0	2	7
3	33,33%	0	0	2	0
4	25%	4	1	4	8
6	16,66%	0	0	0	0
CE 50 calculada: ????			FD: ???		

Tabela 4: Teste de toxicidade aguda da água do final do córrego (1° teste)

Tabela 4. Teste de toxicidade aguda da água do córrego (1° teste)

Universidade Federal de Santa Catarina
 Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
 LABTOX - Laboratório de Toxicologia Ambiental
TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

INFORMAÇÕES

Data da Coleta: 06/05/08

Coletor: Cristiano Maluf

Amostra: Final do córrego

Data do Teste: 13/05/08

Hora de Início do Teste: 15h 00

		Nº DE ORGANISMOS IMÓVEIS			
FD	Concentração	24 HORAS		48 HORAS	
		A	B	A	B
	Controle	0	0	0	0
1	100%	0	0	0	0
2	50%	0	0	0	0
3	33,33%	0	0	1	0
4	25%	0	0	2	2
6	16,66%	0	0	0	0

CE 50 calculada: ????

FD: ???

Porém, tais testes apresentam um comportamento que merecem atenção. Ao invés das diluições com maiores concentrações das amostras resultarem em um maior número de organismos imóveis e as diluições com concentrações menores produzirem menos efeito sobre os organismos, uma parcela dos testes comportam-se de forma diferente. No caso da água coletada no meio do córrego, a concentração (50%), por exemplo, teve imobilidade menor que a concentração mais baixa (25%), e na água do final do córrego, a concentração (25%) teve imobilidade maior do que todas as outras concentrações maiores do teste.

Esse comportamento levanta a hipótese de que o resultado pode ter ocorrido devido a uma mudança comportamental das daphnias em relação a sua alimentação, ou mesmo um acionamento de algum mecanismo fisiológico de defesa do microcrustáceo em concentrações maiores.

No entanto, esse comportamento não é comum a resultados de testes de toxicidade e, devido aos dados encontrados, foram realizados novamente os testes de toxicidade aguda para as amostras do meio e do final do córrego para uma averiguação.

As repetições dos testes de toxicidade aguda para o meio e para o final do córrego foram feitas com amostras de água diferentes das amostras iniciais, porém coletadas no mesmo ponto e em condições climatológicas semelhantes.

Os novos resultados obtidos com os testes estão apresentados nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5: Teste de toxicidade aguda da água do meio do córrego (2° teste)

Universidade Federal de Santa Catarina

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental

LABTOX - Laboratório de Toxicologia Ambiental

TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

INFORMAÇÕES

Data da Coleta: 11/06/08

Data do Teste: 11/06/08

Coletor: Cristiano Maluf

Hora de Início do Teste: 09h 15

Amostra: Meio do córrego

Nº DE ORGANISMOS IMÓVEIS

FD	Concentração	24 HORAS		48 HORAS	
		A	B	A	B
	Controle	0	0	0	0
1	100%	0	0	0	0
2	50%	0	0	0	0
3	33,33%	0	0	0	0
4	25%	0	0	0	0
6	16,66%	0	0	0	0

CE 50 calculada: Não Tóxica

FD: 1

Tabela 6: Teste de toxicidade aguda da água do final do córrego (2º teste)

Universidade Federal de Santa Catarina
 Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
 LABTOX - Laboratório de Toxicologia Ambiental
TESTE DE TOXICIDADE AGUDA

INFORMAÇÕES

Data da Coleta: 11/06/08
 Coletor: Cristiano Maluf
 Amostra: Final do córrego

Data do Teste: 11/06/08
 Hora de Início do Teste: 09h 15

		Nº DE ORGANISMOS IMÓVEIS			
FD	Concentração	24 HORAS		48 HORAS	
		A	B	A	B
	Controle	0	0	0	0
1	100%	0	0	0	0
2	50%	0	0	0	0
3	33,33%	0	0	0	0
4	25%	0	0	0	0
6	16,66%	0	0	0	0

CE 50 calculada: Não Tóxica

FD: 1

Desta vez não foram observadas imobilidades nas daphnias, e, seguindo o mesmo raciocínio do resultado do teste para a amostra da nascente, não existem concentrações de efeito CE_{50} que provoquem a morte ou imobilidade a 50% das populações expostas. As menores diluições das amostras do meio e do final do corpo hídrico, onde não ocorre a imobilidade das daphnias, são as concentrações 100%, ou seja, Fator de Diluição 1.

Como os testes de toxicidade aguda revelam ausência de toxicidade aguda para as amostras de água do meio e do final do córrego, pode-se afirmar que estes locais de coleta atendem à legislação (CONAMA nº 357/05) para águas de Classe 1, no tocante à proteção das comunidades aquáticas, como também para águas de Classe Especial, no tocante à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

Com os resultados obtidos, observou-se uma inexistência de relação direta entre os parâmetros físico-químicos e de toxicidade aguda das amostras.

5.3 – Toxicidade crônica

A não observância de toxicidade aguda nas amostras requereu a realização de teste de toxicidade crônica.

O teste de toxicidade crônica foi realizado somente para a amostra de água do final do córrego (Rio do Meio), ou seja, em um ponto mais crítico, o qual recebe toda a água da sub-bacia da UFSC. Tal teste foi realizado com 4 diluições, compostas por 10 réplicas cada, e um Controle. Decidiu-se trabalhar com as diluições 100%, 50%, 33,33% e 25%.

Os resultados obtidos com o teste, utilizando-se *Daphnia magna*, estão apresentados nas Tabelas 7, 8, 9, 10 e 11 (tabelas utilizadas para anotações em laboratório nos dias de troca das diluições e contagem das daphnias).

Tabela 7: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (CONTROLE)

Teste Crônico com <i>Daphnia magna</i> Straus, 1820 (Crustacea, Cladocera)													
Amostra: Final do córrego				Fator de diluição: CONTROLE									
OD: 2,2 mg/L				pH: 7,62									
Data da Coleta: 06/05/08				Coletor: Cristiano Maluf									
Data de início do Teste: 14/05/08				Sensibilidade: 0,817 mg/L (Dicromato de Potássio)									
Lote Utilizado: 152													
Dia	T	Nº DE NASCIMENTOS										Total de Jovens	Adultas Sobreviventes
		Réplicas											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
14/05/08	QUA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
15/05/08	QUI	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
16/05/08	SEX	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
17/05/08	SÁB	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
18/05/08	DOM	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
19/05/08	SEG	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
20/05/08	TER	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
21/05/08	QUA	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
22/05/08	QUI	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
23/05/08	SEX	9	11	4	15	14	17	14	0	17	14	13	119
24/05/08	SÁB	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
25/05/08	DOM	11	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
26/05/08	SEG	12	17	39	21	29	26	24	42	20	23	19	260
27/05/08	TER	13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
28/05/08	QUA	14	25	0	23	9	24	20	0	9	11	18	139
29/05/08	QUI	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
30/05/08	SEX	16	5	11	0	7	0	0	6	4	6	0	39
31/05/08	SÁB	17	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
01/06/08	DOM	18	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
02/06/08	SEG	19	7	12	4	5	6	4	9	5	7	6	65
03/06/08	TER	20	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
04/06/08	QUA	21	15	5	14	0	17	15	10	3	0	13	92
			80	71	77	64	90	77	67	58	61	69	714

x = dia sem observação da amostra

Tabela 8: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (100%)

Teste Crônico com *Daphnia magna* Straus, 1820
(Crustacea, Cladocera)

Amostra: Final do córrego Fator de diluição: 1 (100%)
OD: 2,2 mg/L pH: 7,62
Data da Coleta: 06/05/08 Coletor: Cristiano Maluf
Data de início do Teste: 14/05/08 Sensibilidade: 0,817 mg/L (Dicromato de Potássio)
Lote Utilizado: 152

		Nº DE NASCIMENTOS										Total de Jovens	Adultas Sobreviventes
Dia	T	Réplicas											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
14/05/08	QUA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
15/05/08	QUI	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
16/05/08	SEX	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
17/05/08	SÁB	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
18/05/08	DOM	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
19/05/08	SEG	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
20/05/08	TER	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
21/05/08	QUA	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
22/05/08	QUI	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
23/05/08	SEX	9	19	23	0	26	16	21	18	19	17	21	180
24/05/08	SÁB	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
25/05/08	DOM	11	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
26/05/08	SEG	12	26	23	24	22	26	31	30	28	21	19	250
27/05/08	TER	13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
28/05/08	QUA	14	11	23	10	11	7	0	5	22	10	22	121
29/05/08	QUI	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
30/05/08	SEX	16	0	0	7	6	8	7	4	0	0	0	32
31/05/08	SÁB	17	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
01/06/08	DOM	18	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
02/06/08	SEG	19	5	8	4†	0	7	12	9	3	0	0	48
03/06/08	TER	20	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x
04/06/08	QUA	21	0	0		10	0	0	0	13	12	17	52
		61	77	45	75	64	71	66	85	60	79	683	

x = dia sem observação da amostra

† = morte da daphnia

Tabela 9: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (50%)

Teste Crônico com *Daphnia magna* Straus, 1820
(Crustacea, Cladocera)

Amostra: Final do córrego

Fator de diluição: 2 (50%)

OD: 2,2 mg/L

pH: 7,62

Data da Coleta: 06/05/08

Coletor: Cristiano Maluf

Data de início do Teste: 14/05/08

Sensibilidade: 0,817 mg/L (Dicromato de Potássio)

Lote Utilizado: 152

		Nº DE NASCIMENTOS										Total de Jovens	Adultas Sobreviventes	
Dia	T	Réplicas												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
14/05/08	QUA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
15/05/08	QUI	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
16/05/08	SEX	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
17/05/08	SÁB	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
18/05/08	DOM	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
19/05/08	SEG	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
20/05/08	TER	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
21/05/08	QUA	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
22/05/08	QUI	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
23/05/08	SEX	9	6	0	0	8	0	0	5	7	4	0	10	
24/05/08	SÁB	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
25/05/08	DOM	11	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
26/05/08	SEG	12	10	48	24	23	10	73	19	31	43	52	10	
27/05/08	TER	13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
28/05/08	QUA	14	19	0	35	39	3†	29	37	5	33	31	9	
29/05/08	QUI	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
30/05/08	SEX	16	11	18	20	17	0	18	27	0	7	118	9	
31/05/08	SÁB	17	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
01/06/08	DOM	18	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
02/06/08	SEG	19	0	16	7	5	16	5	17	15	17	98	9	
03/06/08	TER	20	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
04/06/08	QUA	21	6	7	0	0	17	0	3	5	0	38	9	
			52	89	86	92	13	135	84	90	100	107	848	

x = dia sem observação da amostra

† = morte da daphnia

Tabela 10: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (33,33%)

Teste Crônico com *Daphnia magna* Straus, 1820
(Crustacea, Cladocera)

Amostra: Final do córrego Fator de diluição: 3 (33,33%)
OD: 2,2 mg/L pH: 7,62
Data da Coleta: 06/05/08 Coletor: Cristiano Maluf
Data de início do Teste: 14/05/08 Sensibilidade: 0,817 mg/L (Dicromato de Potássio)
Lote Utilizado: 152

			Nº DE NASCIMENTOS											
Dia		T	Réplicas										Total de Jovens	Adultas Sobreviventes
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
14/05/08	QUA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
15/05/08	QUI	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
16/05/08	SEX	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
17/05/08	SÁB	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
18/05/08	DOM	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
19/05/08	SEG	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
20/05/08	TER	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
21/05/08	QUA	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
22/05/08	QUI	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
23/05/08	SEX	9	8	0	0	0	6	31	5	28	0	0	10	
24/05/08	SÁB	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
25/05/08	DOM	11	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
26/05/08	SEG	12	28	52	19	26	21	31	17	29	54	39	10	
27/05/08	TER	13	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
28/05/08	QUA	14	46	38	7	49	37	48	37	40	5	32	10	
29/05/08	QUI	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		
30/05/08	SEX	16	19	5	0†	0	24	0	25	0	5	5	9	
31/05/08	SÁB	17	x	x		x	x	x	x	x	x	x		
01/06/08	DOM	18	x	x		x	x	x	x	x	x	x		
02/06/08	SEG	19	6	23		26	5	21	7	26	19	14	9	
03/06/08	TER	20	x	x		x	x	x	x	x	x	x		
04/06/08	QUA	21	0	12		14	0	16	0	21	13	15	9	
			107	130	26	115	93	147	91	144	96	105		

x = dia sem observação da amostra † = morte da daphnia

Tabela 11: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (25%)

Tabela 11: Teste de toxicidade crônica da água do final do córrego (25%)														
Teste Crônico com <i>Daphnia magna</i> Straus, 1820 (Crustacea, Cladocera)														
Amostra: Final do córrego				Fator de diluição: 4 (25%)										
OD: 2,2 mg/L				pH: 7,62										
Data da Coleta: 06/05/08				Coletor: Cristiano Maluf										
Data de início do Teste: 14/05/08				Sensibilidade: 0,817 mg/L (Dicromato de Potássio)										
Lote Utilizado: 152														
			Nº DE NASCIMENTOS											
Dia	T	T	Réplicas										Total de Jovens	Adultas Sobreviventes
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
14/05/08	QUA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
15/05/08	QUI	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
16/05/08	SEX	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
17/05/08	SÁB	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
18/05/08	DOM	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
19/05/08	SEG	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
20/05/08	TER	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	
21/05/08	QUA	7	0	0	0	0†	0	0	0	0	0	0	9	
22/05/08	QUI	8	0	0	0		0	0	0	0	0	0	9	
23/05/08	SEX	9	0	0	5		0	0†	0†	4	0	4	7	
24/05/08	SÁB	10	x	x	x		x			x	x	x	x	
25/05/08	DOM	11	x	x	x		x			x	x	x	x	
26/05/08	SEG	12	19	21	33		25			29	37	26	7	
27/05/08	TER	13	x	x	x		x			x	x	x	x	
28/05/08	QUA	14	9	26	42		34			25	0	30	7	
29/05/08	QUI	15	x	x	x		x			x	x	x	x	
30/05/08	SEX	16	11	28	14		6			22	31	23	7	
31/05/08	SÁB	17	x	x	x		x			x	x	x	x	
01/06/08	DOM	18	x	x	x		x			x	x	x	x	
02/06/08	SEG	19	14	5	3		7			0	26	0	7	
03/06/08	TER	20	x	x	x		x			x	x	x	x	
04/06/08	QUA	21	7	5	13		6†			9	6	8	6	
			60	85	110	0	78	0	0	89	100	91	613	

x = dia sem observação da amostra † = morte da daphnia

Para a correta realização do teste crônico, alguns cuidados foram necessários como, por exemplo, utilização de daphnias do mesmo lote e verificação da sensibilidade do lote de daphnias utilizado. Tal sensibilidade situou-se na faixa entre 0,6 mg / L e 1,7 mg / L de CE₅₀ em 24 horas em relação ao dicromato de potássio, indicando condições vitais ideais das daphnias para o teste crônico (ISO 6341, 1996).

Segundo Rand (1995), as daphnias têm o amadurecimento sexual entre o sexto e o décimo dia de vida e o número de posturas esperado no teste é de três a cinco, o que realmente foi constatado no número de posturas do teste.

Para assegurar a validade do teste é necessário que o Controle do mesmo apresente pelo menos 80% de sobrevivência das daphnias adultas, ou seja, 80% das daphnias com longevidade de 21 dias. É necessário, também, no mínimo 4 posturas ao longo de 21 dias (TERRA E FEIDEN, 2003).

Ainda, de acordo com Terra e Feiden (2003), a média de filhotes por fêmea deve ser de aproximadamente 20 indivíduos no final de 21 dias.

No teste desenvolvido com o Meio de cultivo M4 (Controle), 100% das daphnias tiveram longevidade de 21 dias. Em relação ao número de posturas, houve mais do que 4 por daphnia ao longo do período de 21 dias. A primeira postura ocorreu no 9º dia de exposição.

O Controle gerou 714 filhotes, somando-se as posturas de todas as réplicas. Quando se aplicou a fórmula para descobrir a média de filhotes por fêmea no teste desenvolvido, considerando-se 4 ninhadas, obteve-se a média de 17,85 filhotes por fêmea. Portanto, a média encontrada é um pouco menor do que a ideal, que seria 20.

Assim, pôde-se encontrar a concentração de efeito não observado (CENO) e a concentração de efeito observado (CEO), utilizando-se o *software* EMSL Cincinnati Dunnet *version* 1.5, onde foram comparados os resultados do teste em relação ao Controle para os parâmetros de longevidade e fecundidade.

Para a longevidade, a CENO encontrada é de 100%. Isto significa que a mais forte concentração que não causa efeito é de 100%, ou seja, a amostra bruta não causa efeito tóxico crônico nas daphnias no tocante à longevidade. Se a CENO é de 100%, a CEO não pode ser observada, pois não existe, neste caso, a mais fraca concentração que cause efeito tóxico.

Para a fecundidade, a CENO encontrada também é de 100%. Isto significa que a mais forte concentração que não causa efeito é de 100%, ou seja, a amostra bruta não causa efeito tóxico crônico nas daphnias no tocante à fecundidade. Se a CENO é de 100%, a CEO não pode ser observada, pois não existe, neste caso, a mais fraca concentração que cause efeito tóxico.

Portanto, uma vez que o teste de toxicidade crônica executado revela ausência de toxicidade crônica para a amostra de água do final do córrego da UFSC, pode-se afirmar que este local de coleta atende à legislação (CONAMA n° 357/05) para águas de Classe 1, com relação à não verificação de efeito tóxico crônico aos organismos, como também para águas de Classe Especial, no tocante à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

Com os resultados obtidos, observou-se uma inexistência de relação direta entre os parâmetros físico-químicos e de toxicidade crônica das amostras.

6. CONCLUSÃO

Com o presente trabalho, pode-se concluir que as amostras de água do córrego da sub-bacia da UFSC, coletadas em sua nascente, meio e final, não apresentam toxicidade aguda ou crônica aos organismos-teste *Daphnia magna*. No entanto, esse resultado não implica na ausência de substâncias tóxicas no meio, pois estas podem estar presentes sob formas não biodisponíveis ou em concentrações insuficientes para ocasionar toxicidade aos organismos. Tais concentrações podem, contudo, ser bioacumuláveis ao longo do tempo.

A não observância de efeito tóxico agudo ou crônico, ou seja, não havendo substâncias químicas com potencial deletério nos pontos analisados, não há que se garantir uma água totalmente compatível com os padrões de qualidade Classe 1, segundo a legislação (CONAMA nº 357/05). Com exceção da nascente do córrego, onde a ação antrópica é praticamente nula pela dificuldade de acesso, ficam claros os efeitos negativos da ocupação desordenada do solo na sub-bacia da UFSC e de ligações clandestinas de esgoto no local.

Tal fato é provado pela presença de matéria orgânica na água, nos pontos intermediário e final do córrego, indicando poluição do corpo hídrico. As indicações desta contaminação são notadas pelo aumento da condutividade da água (pois tal condutividade está ligada ao teor de sólidos dissolvidos) e, também, pela diminuição da taxa de oxigênio dissolvido (indicadora de atividade microbiana e conseqüente consumo de oxigênio presente na água para a degradação de efluentes).

Se observarmos o Rio do Meio como um todo, fica claro o não atendimento ao Decreto Estadual nº 14.250/81 (Estado de Santa Catarina), cujo Art. 11 diz que, em águas de Classe 1, não são tolerados lançamentos de qualquer efluente, mesmo tratado, e conseqüente desacordo também com os padrões de qualidade para águas de Classe Especial (CONAMA nº 357/05).

Os parâmetros físico-químicos analisados não apresentam correlação direta com os dados de toxicidade das amostras. Isto pode ter ocorrido devido ao período de observação ter sido relativamente curto, não abrangendo, por exemplo, as mudanças ocorridas entre as estações do ano. Além disso, as variáveis físico-químicas só foram analisadas no momento da coleta, não compreendendo períodos anteriores, que representariam melhor as condições no ambiente natural.

Portanto, deve-se sempre analisar, cuidadosamente, os resultados de testes que envolvam a presença de organismos-teste, ou seja, bioensaios, pois uma mudança comportamental atípica desses organismos pode gerar conclusões errôneas.

Assim, tem-se que os estudos físico-químicos e toxicológicos para a avaliação da qualidade da água, recurso natural indispensável à sobrevivência humana e a cada dia mais escasso, são muito importantes para uma adequada e primordial preservação dos recursos hídricos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No decorrer deste trabalho, um fato interessante foi notado: tanto no teste agudo (meio e final do córrego) quanto no teste crônico, quando realizados na concentração 25%, a reação das daphnias foi sempre inesperada, ou seja, não se enquadrou no padrão lógico, merecendo, portanto, futuras análises mais aprofundadas.

Em ambas as amostras (do meio e do final do córrego) da primeira seção de testes de toxicidade aguda (seção esta, posteriormente desconsiderada, em partes, por destoar da lógica), a porcentagem de daphnias que se encontraram imóveis (na concentração 25%) em relação às outras concentrações maiores chegou a ser 300% superior, fato este, atípico e intrigante.

Ao se verificar os resultados do teste de toxicidade crônica, nota-se que para as concentrações Controle, 100%, 50% e 33,33%, no mínimo 9 daphnias sobreviveram até o final dos 21 dias de teste. Para a concentração 25%, somente 6 daphnias ficaram vivas até o final do teste, um número, aproximadamente, 33% menor. Ao se verificar os dias em que as daphnias começaram a morrer, pode-se notar que nas concentrações Controle, 100%, 50% e 33,33%, nenhuma daphnia morreu ou as mortes ocorreram mais na parte final do teste. No caso da concentração 25%, ocorre morte dos organismos-teste já a partir do 7º dia, ou seja, antes mesmo das primeiras posturas.

O presente trabalho não tem por objetivo entrar nos detalhes no que diz respeito aos fatos citados acima, mas deixa registrado, para futuras análises, a interessante reação atípica das daphnias à concentração 25% do efluente do córrego da UFSC.

Os testes de toxicidade, além de muito importantes, são bem fáceis de serem realizados tanto pelos procedimentos quanto pela fácil manipulação em função do tamanho das daphnias. Tais testes fornecem resultados objetivos e mensuráveis com um custo relativamente baixo, porém, necessitam de muita atenção e adequação de cada cultivo aos parâmetros de validade.

No resultado do teste de toxicidade crônica, observa-se que a média de filhotes por fêmea no Controle é um pouco menor do que a ideal, mas esse dado é utilizado pelo fato de se ter realizado somente um teste.

Os resultados encontrados representam as condições no dia da coleta, não podendo ser extrapolados para períodos mais longos.

É importante que os dados obtidos, assim como as conclusões, sejam mostrados à população. Afinal, ela é a principal responsável pela poluição na bacia e também a principal prejudicada com essa realidade. Deve-se, além de informar, também educar. Um programa de educação ambiental pode ser realizado para que se possa tentar alterar a qualidade da água para os padrões de Classe 1, conforme estabelecido pelo CONAMA, melhorando a situação geral da bacia hidrográfica do *Campus* da UFSC. Um monitoramento da área também é imprescindível.

Programas de proteção ou preservação dos recursos hídricos, que visam soluções ambientais satisfatórias em áreas urbanas, devem considerar o corpo d'água como integrante de um ambiente completo que forma a sua bacia hidrográfica.

A inexistência de preservação adequada do corpo hídrico gera riscos diretos e indiretos à saúde pública. Os diretos são ocasionados pelo contato com a água poluída, que pode conter excrementos humanos e de animais. Os riscos indiretos derivam, principalmente, da proliferação de vetores sanitários, como, por exemplo,

moscas, mosquitos, ratos e baratas, os quais encontram alimento e condições para reprodução.

Os resultados obtidos com este trabalho podem fornecer ao público e à comunidade científica informações preliminares relevantes para serem utilizadas como subsídios em maiores estudos.

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como recomendações para pesquisas futuras, tem-se:

- Continuar o estudo por um período mais extenso, que abranja todas as estações do ano, através dos testes de toxicidade aguda e crônica, para uma melhor avaliação da toxicidade da água do córrego da sub-bacia da UFSC;
- Realizar um número maior de testes e diluições testadas para uma melhor averiguação dos efeitos tóxicos das amostras;
- Fazer o monitoramento dos parâmetros físico-químicos de forma mais freqüente;
- Avaliar também os parâmetros de crescimento e de alterações morfológicas das daphnias.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12.713: Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2003a. 16 p.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13.373: Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2003b. 12p.

AZEVEDO, F.A. & Chasin, A.M. As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia. São Carlos SP. Ed. Rima (Intertox), 2003. 340p.

BRASIL. Resolução Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 357, de 17 de março de 2005. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 de março de 2005.

BRENTANO, Débora Monteiro. Desenvolvimento e Aplicação do Teste de Toxicidade Crônica com *Daphnia magna*: Avaliação de Efluentes Tratados de um Aterro Sanitário. Florianópolis, 2006. 130p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina.

CHASIN, A. A. da M.; PEDROZO, M. de F. M. O estudo da toxicologia. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. da M. (Org.) As bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Carlos: RIMa, 2003. 340p.

EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. EMSL Cincinnati Dunnet Software version 1.5. Disponível em: <www.epa.gov/nerleerd/stat2.htm>. Acessado em 10 de novembro de 2007.

EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. USEPA. EPA-821-R-02-013: Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms. 4th ed. Washington, USA, 2002a.

ESTADO DE SANTA CATARINA. Decreto Estadual nº 14.250, de 05 de junho de 1981.

ESTADO DE SANTA CATARINA. Conselho Estadual de Recursos Hídricos – CERH, Resolução nº 003/2007.

FELLENBERG, Gunter. Introdução aos problemas da poluição ambiental. São Paulo: EPU; Springer ; EDUSP, 1980. 196p

FINKLER, R. Avaliação do efeito tóxico de líquidos percolados sobre o sistema reprodutivo de *Daphnia magna*. 2002. 105p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). UFSC, Florianópolis. 2002.

FONSECA, A. L. A biologia das espécies e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais. 1991. 210p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento). UFSCAR, São Paulo. 1991.

FONSECA, A. L. Avaliação da qualidade da água na Bacia do Rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados. 1997. 183p. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). UFSCar, São Paulo. 1997.

GHERARDI-GOLDSTEIN, Elenita. Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos. São Paulo: CETESB, 1990. 17p. (Manuais ,6.).

GOLDSTEIN, E. G. Testes de toxicidade de Efluentes Industriais. Revista CETESB de Tecnologia – Ambiente, São Paulo, n.1, v.1, p. 33-37. 1988.

GRAEFF, Frederico G. Drogas psicotrópicas e seu modo de ação. São Paulo: Ed. da USP: E.P.U., 1984. 111p.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber metod for calculation of EC50 and LC50 values in bioassais. Burlington research inc. fci. tecnol. n. 11, v. 7, p. 114-119. 1977.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: www.ibge.gov.br, visitado em 10 de novembro de 2007.

IPUF. Plano Diretor – Distrito Sede . Florianópolis, 1997.

ISO - INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. ISO 6341: water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). USA, 1996. 7 p.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 8692 - water quality: Fresh water algal growth inhibition test whit *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*. USA, 1989.

KNIE, Joachim; LOPES, Ester Warken Bahia. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004. 288p

LARINI, Lourival. Toxicologia. 3. ed. São Paulo: Manole, 1997. 301p.

LOBO, E. A.; CALLEGARO, V. L. Avaliação da qualidade de águas doces continentais com base em algas diatomáceas epilíticas: Enfoque metodológico. p. 277- 300. In: TUCCI, C. E. M. & MARQUES, D. M. (Org.), Avaliação e Controle da Drenagem Urbana. Porto Alegre: Ed.Universidade/UFRGS. 558p. 2000.

LU, F.C. Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk_Assessment. Taylor & Francis, Washington, 1996.

- MATIAS, William Gerson. Apostila de Toxicologia Ambiental. UFSC, 2007.
- MELLANBY, Kenneth. Biologia da poluição. São Paulo: EPU: Ed. da USP, 1982. vol. 28. 89p.
- MOTA, Suetônio. Planejamento urbano e preservação ambiental. Fortaleza : Edições UFC, 1981. 241 p.
- MOTA, Suetônio. Preservação de recursos hídricos. Rio de Janeiro : ABES, 1988. 222 p.
- MOTA, Suetônio. Preservação e conservação de recursos hídricos. 2. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1995. 187 p
- MOTA, Suetônio. Urbanização e meio ambiente. Rio de Janeiro : ABES, 1999. 352 p.
- RAND, G. M. Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment. 2nd edition. North Palm Beach, Florida: Taylor e Francis. 1995. 1125p.
- RIGUETTO, A.M. Hidrologia e recursos hídricos. Ed. EESC-USP, São Carlos, SP, 1999. 819 p.
- RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. Zoologia dos Invertebrados. 6ª ed. São Paulo: Roca, 1996. 1029p.
- SAAR, J. H. Biotestes para efluentes industriais – Ameaça ou solução? Umwelt – Assessoria Ambiental. Artigo Técnico. < www.umweltsc.com.br>. 2002.
- STANDARD methods for the examination of water and wastewater. Washington: APHA, 21ª ed., 2005.
- TERRA, N. R.; FEIDEN, I. R. Reproduction and survival of *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea: Cladocera) under different hardness conditions. Acta Limnologica Brasiliis, v.15, n.2, p. 51-55. 2003.
- TUCCI, C. E. M. Água no meio urbano. In: REBOUÇAS, A. da C.: Braga, B.: Tundisi, J. G. Águas Doces no Brasil – Capital Ecológico, Uso e Conservação, 2002. p. 473 - 506. Escrituras: São Paulo.
- TUCCI, C. E. M. Hidrologia. Ciência e Aplicação. EDUSP, São Paulo (SP), 1993.
- VON SPERLING, Marcos. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3. ed. vol 1. Belo Horizonte: UFMG, 2005. 452 p.

ZAGATTO, P.A. & BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia Aquática – princípios e aplicações. Rima Editora, São Carlos, SP. 478p. 2006.